

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV:
Influência da Patogénese na Clínica, Imunologia,
Tratamento e Prevenção**

José Luís Parreira de Oliveira

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2017

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV:
Influência da Patogénese na Clínica, Imunologia,
Tratamento e Prevenção**

José Luís Parreira de Oliveira

Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentada à
Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia

Orientador: Prof.^a Doutora Quirina Alexandra Pinto Santos Costa

2017

“Aos que não sabem, ensinai-lhes o mais que
puderdes; a sociedade, cujo dever seria dar
educação gratuita aos famintos da ciência, é a
única responsável pelas trevas que produz.”

Victor Hugo, Os Miseráveis

Redigido na Língua Portuguesa segundo o Acordo Ortográfico de 1945

Resumo

A Leishmaniose é uma designação comum para as doenças provocadas pelos protozoários do género *Leishmania*. A transmissão é feita pela picada de um flebótomo ou flebotomíneo infectado, em geral, por um ciclo zoonótico. O principal reservatório do protozoário, no ciclo zoonótico, é o cão. Países como o Brasil, a Etiópia e a Índia apresentam uma elevada prevalência de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e sendo países endémicos para a Leishmaniose visceral (LV) há um risco acrescido de ocorrência de co-infecções. Quer o HIV, quer a *Leishmania* spp. podem também ser transmitidos por via sanguínea, como por exemplo na partilha de agulhas contaminadas.

Na co-infecção HIV-*Leishmania* a maioria dos casos apresenta a forma clínica de LV, a mais grave. *L. donovani* e *L. infantum* são os principais agentes etiológicos de LV. O diagnóstico de LV é mais difícil na co-infecção HIV-*Leishmania* e esta última apresenta menor probabilidade de cura, maior toxicidade medicamentosa, maior probabilidade de recorrências, e maiores números de óbitos. Mais de 40% dos co-infectados não apresentam níveis detectáveis de anticorpos específicos contra a *Leishmania* spp. Cerca de metade dos co-infectados desenvolvem critérios de síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) dentro de 2 meses após o diagnóstico de LV.

Estes protozoários podem infectar células fagocitárias como os macrófagos e as células dendríticas. A infecção pela *Leishmania* spp. induz uma activação crónica do sistema imunitário e nos indivíduos infectados pelo HIV ocorre a activação do vírus latente, há um aumento da carga viral e evolução clínica para SIDA. Na co-infecção HIV-*Leishmania*, o HIV contribui para uma maior multiplicação intracelular do protozoário.

A resposta imunitária mediada pelos linfócitos T auxiliares do tipo 2 (T_H2) aumenta a susceptibilidade a infecções por agentes patogénicos intracelulares como vírus e a *Leishmania* spp., desactivando os macrófagos e prevenindo a produção das citocinas do tipo T_H1. A resposta imunitária protectora à Leishmaniose é mediada pelos linfócitos T auxiliares do tipo 1 (T_H1). Na LV há uma mistura das respostas T_H1 e T_H2 contudo a resposta T_H2 tende a dominar quando ambas são activadas.

O tratamento geralmente não consegue eliminar todos os parasitas e uma infecção subclínica (assintomática) persiste. Nos indivíduos co-infectados as recorrências da doença são frequentes.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Resumo

Palavras-chave: Leishmaniose, HIV, Patogénese, Tratamento, Co-infecção.

Abstract

Leishmaniasis is a common name for diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania*. The transmission is done by the bite of an infected phlebotomine sandfly, usually by a zoonotic cycle. The main reservoir host of the protozoa, in the zoonotic cycle, is the domestic dog. Countries such as Brazil, Ethiopia and India have a high prevalence of human immunodeficiency virus (HIV) infection and since they are endemic countries for visceral leishmaniasis (VL) there is an increased risk of co-infections. Both pathogens, HIV and *Leishmania* spp., are also transmitted through the blood, for example, in the sharing of contaminated needles.

In HIV-*Leishmania* co-infection, most cases present the most severe clinical form of VL. *L. donovani* and *L. infantum* are the main etiological agents of VL. The diagnosis of VL is more difficult in HIV-*Leishmania* co-infection and the latter has a lower probability of cure, higher drug toxicity, higher probability of reoccurrence and a higher number of deaths. Over 40% of co-infected individuals do not have detectable levels of specific antibodies against *Leishmania* spp. Half of the co-infected individuals develop acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) criteria within 2 months after the diagnosis of VL.

This protozoan infect macrophages and dendritic cells and thus, Leishmaniasis induces chronic activation of the immune system and, in individuals infected with HIV, there is an activation of the virus, with an increase in viral load and clinical progression to AIDS. In HIV-*Leishmania* co-infection, HIV contributes to a higher intracellular multiplication of the protozoa.

The immune response mediated by the T helper type 2 (T_H2) lymphocytes increases the susceptibility to infections by intracellular pathogenic agents such as viruses and *Leishmania* spp., by deactivating the macrophages and preventing the production of T_H1 type cytokines. The protective immune response to Leishmaniasis is mediated by the T helper T type 1 (T_H1) lymphocytes. In VL there is a mix of the T_H1 and T_H2 responses however the T_H2 response tends to dominate when both are activated.

The treatment generally does not eliminate all parasites and a subclinical (asymptomatic) infection persists. Reoccurrences of the disease are frequent in co-infected individuals.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Abstract

Keywords: Leishmaniasis, HIV, Pathogenesis, Treatment, Co-infection.

Lista de abreviaturas

µm	Micrómetro
a.C.	Antes de Cristo
AmB	Anfotericina B, do inglês <i>Amphotericin B</i>
CCR	Receptor de quimiocinas do grupo CC, do inglês <i>CC chemokine receptor</i>
CD	Grupo de Diferenciação, do inglês <i>Cluster of Differentiation</i>
CDC	Centros para o Controlo e Prevenção de Doenças, do inglês <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CL-AmB	Complexo lipídico de anfotericina B, do inglês <i>Amphotericin B lipid complex</i>
CXCR	Receptor de quimocinas do grupo CXC, do inglês <i>CXC chemokine receptor</i>
DAT	Teste de aglutinação directa, do inglês <i>Direct agglutination test</i>
DC-AmB	Dispersão coloidal de anfotericina B, do inglês <i>Amphotericin B colloidal dispersion</i>
DC-SIGN	Em inglês, <i>Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3 (ICAM-3)-grabbing non-integrin</i>
DGS	Direcção-Geral da Saúde
DNA	Ácido Desoxirribonucleico, do inglês <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática, do inglês <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Lista de abreviaturas

Env	Invólucro, do inglês <i>Envelope</i>
FcγR	Em inglês, <i>Fragment crystallizable gamma receptor</i>
Gag	Antígenos específicos de grupo, do inglês <i>Group-specific antigen</i>
gp	Glicoproteína
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana, do inglês <i>Human immunodeficiency virus</i>
HLA	Antígeno Leucocitário Humano, do inglês <i>Human Leukocyte Antigen</i>
HSH	Homens que têm sexo com homens
IFAT	Teste de imunofluorescência indirecta, do inglês <i>Immunofluorescence antibody test</i>
IFN	Interferão, do inglês <i>Interferon</i>
IGRA	Ensaio de libertação do interferão-gama, do inglês <i>Interferon gamma release assay</i>
IL	Interleucina
IM	Intramuscular, do inglês <i>Intramuscular</i>
iNOS	Sintetase induzível de óxido nítrico, do inglês <i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>
IV	Endovenosa ou intravenosa, do inglês <i>Intravenous</i>
kDNA	Ácido Desoxirribonucleico do cinetoplasto, do inglês <i>kinetoplast deoxyribonucleic acid</i>
L-AmB	Anfotericina B lipossomal, do inglês <i>Liposomal Amphotericin B</i>
LAMP	Amplificação isotérmica mediada por <i>loop</i> , do inglês <i>Loop-mediated isothermal amplification</i>

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Lista de abreviaturas

LC	Leishmaniose Cutânea
LCan	Leishmaniose Canina
LCD	Leishmaniose Cutânea Difusa
LCDS	Leishmaniose Cutânea Disseminada
LCL	Leishmaniose Cutânea Localizada
LDPK	Leishmaniose Dérmica pós-Kala-azar
LFG	Lipofosfoglicanos
LMC	Leishmaniose Mucocutânea
LV	Leishmaniose Visceral
Nef	Factor negativo, do inglês <i>Negative Factor</i>
NF	Factor Nuclear, do inglês <i>Nuclear Factor</i>
NK	Assassinas naturais, do inglês <i>Natural Killer</i>
nm	Nanómetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reacção de polimerase em cadeia, do inglês <i>Polymerase chain reaction</i>
PFG	Proteofosfoglicanos
Pol	Polimerase, do inglês <i>Polymerase</i>
qPCR	Reacção de polimerase em cadeia quantitativo, do inglês <i>quantitative Polymerase chain reaction</i>
Rev	Proteína reguladora viral, do inglês <i>Regulator of Virion</i>
rK39	Antigénio K39 recombinante

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Lista de abreviaturas

RNA	Ácido ribonucleico, do inglês <i>Ribonucleic acid</i>
Sb	Antimónio (símbolo químico)
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
TARc	Terapêutica Anti-retrovírica Combinada
Tat	Proteína transactivadora da transcrição, do inglês <i>Trans-Activator of Transcription</i>
TGF	Factor de crescimento e transformação, do inglês <i>Transforming Growth Factor</i>
T _H	Linfócito T auxiliar, do inglês <i>helper T cell</i>
TNF	Factor de Necrose Tumoral, do inglês <i>Tumour Necrosis Factor</i>
T _{Reg}	Linfócito T regulador, do inglês <i>regulatory T cell</i>
UDI	Utilizadores de drogas injectáveis
Vif	Factor de infectividade viral, do inglês <i>Viral infectivity factor</i>
Vpr	Proteína viral R, do inglês <i>Viral Protein R</i>

Índice Geral

RESUMO.....	VII
ABSTRACT	IX
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
ÍNDICE GERAL	XV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XVIII
ÍNDICE DE TABELAS.....	XIX
GLOSSÁRIO.....	XX
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - Objectivos.....	1
1.2 - Material e Métodos.....	1
1.3 - Introdução	1
CAPÍTULO 2 – A LEISHMANIOSE NO HOMEM	3
2.1 – Epidemiologia.....	3
2.2 – Classificação e morfologia.....	8
2.3 – Hospedeiros	11
2.3.1 – Vector	11
2.3.2 – Hospedeiros vertebrados.....	13

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Índice Geral

2.4 – Ciclo de vida	14
2.5 - Patogénese	17
2.6 – Clínica	21
2.6.1 – Métodos de diagnóstico	21
2.6.2 – Leishmaniose cutânea localizada (LCL)	25
2.6.3 – Leishmaniose recidiva	28
2.6.4 – Leishmaniose cutânea difusa (LCD)	28
2.6.5 – Leishmaniose cutânea disseminada (LCDS)	29
2.6.6 – Leishmaniose dérmica pós-Kala-azar (LDPK)	30
2.6.7 – Leishmaniose mucocutânea (LMC)	30
2.6.8 – Leishmaniose visceral ou Kala-azar	31
2.7 – Tratamento	32
2.7.1 – Antimoniais Pentavalentes	33
2.7.2 – Anfotericina B.....	34
2.7.3 – Pentamidina	34
2.7.4. - Miltefosina	35
2.7.5. - Paromomicina	35
2.7.6 – Outros tratamentos	35
2.7.7. - Combinações.....	38
2.8 - Prevenção	38
 CAPÍTULO 3 – A INFECCÃO PELO HIV.....	 40
3.1 – Epidemiologia.....	40
3.2 - Agente patogénico	41
3.3 – Transmissão	42
3.4 – Ciclo de vida	43

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Índice Geral

3.5 – Patogénese	44
3.6 – Clínica	46
3.7 - Tratamento e profilaxia	47
CAPÍTULO 4 – A CO-INFECÇÃO HIV-<i>LEISHMANIA</i>	49
4.1 - Epidemiologia	49
4.2 - Patogénese	50
4.3 - Clínica	52
4.4 - Tratamento	54
4.5 – Prevenção	55
CAPÍTULO 5 - CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

Índice de Figuras

Figura 1 – A Leishmaniose visceral (LV) no mundo em 2015	4
Figura 2 – Casos de Leishmaniose visceral (LV) em Portugal, 1950-2015.....	6
Figura 3 – A Leishmaniose cutânea (LC) no mundo em 2015	6
Figura 4 – Classificação do género <i>Leishmania</i>	9
Figura 5 – Alterações morfológicas e estrutura celular da <i>Leishmania</i> spp.....	10
Figura 6 – <i>Phlebotomus papatasi</i> durante uma refeição de sangue	12
Figura 7 – Evolução clínica da Leishmaniose no cão	14
Figura 8 – Ciclo de vida da <i>Leishmania</i> spp.	15
Figura 9 – Desenvolvimento da <i>Leishmania</i> spp. no tracto digestivo do vector	16
Figura 10 – Diferenciação dos linfócitos T auxiliares	18
Figura 11 – Micrografia óptica de formas amastigotas de <i>Leishmania</i> spp. num aspirado de medula óssea	23
Figura 12 – Ulceração crónica no pé direito, por <i>Leishmania</i> spp.....	26
Figura 13 – Úlceras no braço esquerdo de um indivíduo com Leishmaniose cutânea	28
Figura 14 – Apresentação clínica da Leishmaniose cutânea difusa e da Leishmaniose cutânea disseminada	29
Figura 15 – Ulceração da mucosa nasal por <i>Leishmania</i> spp. num doente do Paraguai.....	31
Figura 16 – Esquema representativo da morfologia do vírus da imunodeficiência humana (HIV)	42
Figura 17 – Ciclo de replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) numa célula humana	43
Figura 18 – Infecção secundária de candidíase oral pseudomembranosa num indivíduo infectado com o vírus da imunodeficiência humana (HIV)	46
Figura 19 – Vias de transmissão da <i>Leishmania</i> spp. e do vírus da imunodeficiência humana (HIV)	49
Figura 20 – Patogénese na co-infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e <i>Leishmania</i> spp.....	52

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Análise dos dados epidemiológicos de Leishmaniose visceral (LV)	5
Tabela 2 – Análise dos dados epidemiológicos de Leishmaniose cutânea (LC)	7
Tabela 3 – Comparação dos métodos de diagnóstico de Leishmaniose visceral em imunocompetentes.....	22
Tabela 4 – Comparação dos métodos de diagnóstico não parasitológicos em co-infectados ..	22
Tabela 5 – Principais tratamentos utilizados na infecção por <i>Leishmania</i> spp.	37
Tabela 6 – Combinações de fármacos estudadas	38
Tabela 7 – Dados epidemiológicos da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em países endémicos para Leishmaniose visceral (LV) em 2016.....	41
Tabela 8 – Regimes de profilaxia secundária estudados	56

Glossário

Acantose	Aumento da espessura da epiderme.
Acneiforme	Com aspecto de acne.
Actividade antibiótica de largo espectro	Com actividade contra vários agentes patogénicos.
Adenite	Inflamação de uma glândula, em especial dos nódulos linfáticos.
Afonia	Perda ou diminuição da voz.
Agente etiológico	Agente causador de uma doença.
Albumina	Proteína produzida pelo fígado e presente em grande concentração no sangue. As suas funções incluem a retenção de água nos vasos sanguíneos e o transporte de algumas substâncias como certas hormonas e iões cálcio.
Anemia	Diminuição abaixo do normal do número de eritrócitos ou da quantidade de hemoglobina.
Anemia normocítica normocrómica	Anemia sem alteração do conteúdo de hemoglobina dos eritrócitos, nem do seu tamanho.
Anticorpo	Imunoglobulina. Glicoproteína produzida pelos linfócitos B e pelos plasmócitos com propriedades imunitárias. Liga-se de forma específica a um ou mais antígenos.
Antígeno	Qualquer substância que se liga de forma específica a um anticorpo ou a um receptor de linfócitos T. Inclui os imunogénios: substâncias capazes de induzir uma resposta imunitária.
Antineoplásico	Inibe o desenvolvimento de células malignas ou tumorais.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Antroponótico	O Homem é o único reservatório.
Ascite	Existência de líquido na cavidade peritoneal com correspondente aumento do volume abdominal.
Assintomático	Que não apresenta sintomas.
Astrócito	Célula do sistema nervoso central. Desempenha várias funções como o fornecimento de nutrientes e protecção dos neurónios.
Autofagossoma	Compartimento com uma dupla membrana que sequestra porções do citoplasma contendo organelos ou macromoléculas para degradação (macroautofagia).
Broncopneumonia	Inflamação dos pulmões, com envolvimento dos bronquíolos e dos brônquios.
Caquexia	Estado de extrema fraqueza.
Carga parasitária	Quantificação representativa da concentração de parasitas num dado volume de um líquido biológico.
Carga viral	Quantificação representativa da concentração de partículas virais num dado volume de um líquido biológico. É reportado, no caso do vírus da imunodeficiência humana (HIV), como o número de cópias de ácido ribonucleico (em inglês, RNA) viral por mililitro de plasma sanguíneo (componente líquido acelular do sangue).
Cefaleias	Dores de cabeça.
Célula de memória	Linfócito que mantém a capacidade de reconhecer um antígeno específico e que apresenta um longo tempo de vida. Após contacto com o antígeno específico originam novas células de memória e células efectoras (plasmócitos ou linfócitos T).
Célula dendrítica	Célula especializada na apresentação de antígenos aos linfócitos.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Célula <i>Natural Killer</i> (NK)	Linfócito especializado na eliminação de células.
Circuncisão	Intervenção cirúrgica que consiste na extirpação de parte do prepúcio ficando a glande do pénis descoberta.
Citocina	Molécula que, ao exercer o seu efeito nas células do sistema imunitário, regula a resposta imunitária.
Citoplasma	Espaço intracelular entre a membrana plasmática e o núcleo, se existente.
Classificação biológica	Os seres vivos são agrupados, com base nas suas características ou informação genética, em categorias que apresentam uma estrutura hierárquica. Em ordem crescente as principais categorias são: Espécie, Género, Família, Ordem, Classe, Filo, Reino e Domínio.
Co-infecção	Infecção simultânea por dois ou mais organismos.
Complemento	O sistema do complemento é um conjunto de proteínas presentes no sangue ou na membrana de células que interagem entre si e com outras moléculas, desempenhando funções que complementam as do sistema imunitário do qual fazem parte.
Contiguidade	Estado de duas partes ou coisas que se tocam ou se aproximam.
Crateriforme	Que apresenta uma concavidade em forma de cratera.
Cutâneo	Relativo à pele.
Divisão binária	Processo no qual uma célula divide-se em duas células idênticas.
Doença sistémica	Doença que afecta múltiplos órgãos ou o corpo todo.
Edema	Acumulação anormal de líquido nos tecidos.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Electroforese enzimática <i>multilocus</i>	Método que permite a caracterização de organismos com base na diferente mobilidade de enzimas intracelulares, na presença de um campo eléctrico. As diferenças de mobilidade estão relacionadas com diferenças nos genes que codificam a estrutura dessas enzimas.
Electrólito	Minerais presentes nos líquidos corporais (como por exemplo o sódio, potássio, magnésio e o cálcio) sobre a forma de iões, partículas com carga eléctrica.
Endémico	Comum ou constantemente presente numa população.
Enfarte	Necrose de um tecido por deficiente irrigação sanguínea.
Enzima	Proteína que activa e/ou regula uma reacção química.
Enzima hidrolítica	Enzima cuja função é a digestão de macromoléculas num processo designado hidrólise e que conta com a participação de moléculas de água.
Eosinófilo	Leucócito dotado de um núcleo segmentado ou lobulado. Migra para os tecidos. Intervém na resposta alérgica e na resposta a vermes intestinais.
Epidemiologia	É o estudo da distribuição de uma doença ou infecção e dos factores determinantes da frequência da mesma.
Epitélio	Tecido constituído por células justapostas em uma ou mais camadas e que reveste toda a pele e todas as mucosas.
Eritematoso	Com vermelhidão da pele devido a dilatação dos capilares, que desaparece temporariamente com a pressão.
Eritrócitos	Hemácias ou glóbulos vermelhos do sangue.
Esfregaço	Preparado em camada fina de uma amostra biológica numa lâmina de vidro para observação a microscópio.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Espiroquetas	Bactérias da ordem <i>Spirochaetales</i> . Inclui o agente etiológico da sífilis.
Esplénico	Pertencente ao baço.
Esplenomegália	Aumento do volume do baço (órgão localizado no abdómen, entre o estômago e as falsas costelas).
Exantema	Afecção cutânea caracterizada por erupção avermelhada, sem pústulas (saliência da epiderme contendo pús).
Fagocitose	Processo pelo qual algumas células do sistema imunitário englobam partículas ou microorganismos de modo a os destruir. O material fagocitado fica circunscrito a um compartimento rodeado por uma membrana, o fagossoma, que após fusão parcial com um lisossoma origina o fagolisossoma, onde ocorre a digestão do material.
Fagolisossoma	Surge após a fusão parcial de um lisossoma com um fagossoma. Como resultado ocorre a transferência dos conteúdos do lisossoma para o fagossoma. Apresenta um meio ácido, enzimas hidrolíticas e produção de espécies reactivas de oxigénio, de forma a digerir e destruir o material fagocitados.
Fagossoma	Compartimento rodeado por uma membrana, contendo o material que foi fagocitado.
Faringite	Inflamação da faringe (garganta).
Farmacocinética	Referente aos processos de absorção, transformação e eliminação de fármacos.
Fármaco	Substância activa de um medicamento, à qual é atribuída as propriedades medicamentosas.
Fibrose	Formação de tecido fibroso por um processo de cicatrização, substituindo o tecido necrosado. Pode comprometer a arquitectura e a função do órgão.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Flagelo	Estrutura externa constituída por um filamento que permite a mobilidade da célula.
Flebotomíneo	Pequeno insecto com duas asas, cuja fêmea se alimenta de sangue.
Folículo linfático	Agregados de linfócitos B, células dendríticas e outras células.
Fonação	Emissão da voz ou de palavras.
Genoma	Material genético de um organismo.
Glomerulonefrite	Inflamação dos glomérulos renais.
Hematúria	Presença de hemácias (sangue) na urina.
Hemoglobina	Substância existente nos eritrócitos e responsável pelo transporte do oxigénio.
Hepático	Referente ao fígado.
Hepatomegália	Aumento do volume do fígado.
Heteróximo	Requer pelo menos dois hospedeiros para completar o seu ciclo de vida.
Hiperpigmentação	Excesso de pigmentação.
Hiperplasia	Aumento do número de células num tecido.
Hiperqueratose	Espessamento do estrato córneo da epiderme (a camada mais superficial da pele).
Hipertensão portal	Aumento da pressão na veia porta, que transporta para o fígado o sangue venoso proveniente de uma grande parte do tubo digestivo. Pode provocar hemorragias internas e ascite.
Hipertrofia	Aumento do volume das células de um tecido.
Hipoalbuminémia	Diminuição da concentração de albumina no sangue. Pode causar edema generalizado.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Imunocompetente	Com uma resposta imunitária normal.
Imunocomplexo	Conjugados de imunoglobulinas e antígenos.
Imunodeficiência	Estado de ausência ou diminuição da resposta imunitária.
Imunossupressão	Estado de depressão da resposta imunitária, devido à acção de uma substância ou agente imunossupressor (por exemplo, corticosteróides).
Incidência	Proporção ou número de novos casos numa população, num certo período de tempo.
Índice terapêutico	Relação entre a dose terapêutica e a dose máxima tolerada ou dose tóxica. Quanto maior a diferença entre os dois valores, maior o índice terapêutico.
Inoculação	Penetração no organismo de um microorganismo patogénico através de uma lesão ou ferida.
Integrase	Enzima do vírus da imunodeficiência humana (HIV) que realiza a integração do genoma proviral no genoma da célula infectada.
Lactação	Período de aleitamento.
Leucócitos	Glóbulos brancos do sangue.
Leucocitúria	Presença elevada de leucócitos na urina.
Leucopénia	Diminuição do número de leucócitos no sangue.
Líquido cefalorraquidiano	Líquido produzido nos ventrículos cerebrais que banha a superfície do encéfalo e da medula espinal.
Linfadenopatia	Termo genérico empregue quando há alterações num ou mais nódulos linfáticos. Geralmente usado como sinónimo de linfadenite (inflamação dos nódulos linfáticos) ou linfadenomegalia (aumento do volume dos nódulos linfáticos).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Linfangite	Inflamação dos vasos linfáticos.
Linfócito	Leucócito dotado de um núcleo não segmentado. Não realiza fagocitose. Há três subpopulações: linfócitos B, linfócitos T e células <i>Natural Killer</i> (NK).
Linfócito B	Linfócito que sofre maturação na medula óssea. Após interacção com um antígeno específico diferencia-se em plasmócitos e em células de memória.
Linfócito T	Linfócito que sofre maturação no Timo (pequeno órgão abaixo do esterno e à frente do coração). Há duas principais subpopulações: linfócitos T auxiliares e linfócitos T citotóxicos.
Linfócito T auxiliar	Linfócito T especializado na regulação da resposta imunitária quer pela elevada produção de citocinas, quer por interagir com as outras células do sistema imunitário. Expressa a molécula CD4. Após interacção com um antígeno específico diferencia-se em células efectoras e em células de memória.
Linfócito T citotóxico	Linfócito T especializado na eliminação de células. Expressa a molécula CD8. Após interacção com um antígeno específico diferencia-se em células efectoras e em células de memória.
Lisossoma	Compartimento esférico limitado por uma única membrana contendo enzimas hidrolíticas e um meio ácido. A sua função é a digestão intracelular de macromoléculas.
Macrófago	Leucócito dotado de um núcleo não segmentado e especializado na realização de fagocitose, apresentação de antígenos aos linfócitos e produção de citocinas.
Mácula	Área circunscrita da pele em que apenas está aparentemente alterada a sua cor ou tonalidade. Sem relevo.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Matriz peritrófica	Membrana composta por quitina e proteínas que tem como função separar o alimento do epitélio do intestino do insecto.
Medula óssea	Tecido localizado no interior de alguns ossos e onde ocorre a produção das células sanguíneas.
Miosite	Inflamação de um ou mais músculos.
Mitocôndria	Estrutura celular onde ocorre produção de energia em condições aeróbias (na presença de oxigénio).
Monócito	Leucócito dotado de um núcleo não segmentado e capaz de realizar fagocitose. Migra para os tecidos onde se diferencia no macrófago.
Morfologia	Forma ou estrutura.
Mucocutâneo	Relativo à pele e mucosas.
Necrose	Morte de um tecido ou parte deste.
Nefrite	Inflamação do rim.
Nefrotoxicidade	Toxicidade para o rim.
Neutrófilo	Leucócito dotado de um núcleo segmentado ou lobulado. Realizam fagocitose e podem destruir células marcadas com anticorpos.
Nódulo	Elevação sólida da pele, maior que uma pápula.
Nódulo linfático	Pequena nodosidade existente no trajecto dos vasos linfáticos. São estruturas rodeadas por uma cápsula, contendo células do sistema imunitário.
Novo Mundo	América.
Oligoclonal	Proveniente de várias diferentes linhagens de linfócitos B.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Onicogribose	Deformação da unha que fica encurvada, como uma garra. Ocorre devido a um processo inflamatório (dermatite).
Organelo	Estrutura subcelular limitada por membrana.
Palato	Céu da boca.
Pancitopénia	Diminuição de todos os elementos celulares do sangue.
Pandemia	Doença ou infecção que atinge ao mesmo tempo um grande número de indivíduos de um mesmo país ou da maior parte do mundo.
Papilomatoso	Semelhante a uma verruga ou papiloma.
Pápula	Lesão cutânea que consiste numa elevação circunscrita e sólida. Tem pequenas dimensões (menos de 1cm).
Parasita	Organismo que se alimenta à custa de outro ser vivo ou de substâncias produzidas por outro organismo, podendo causar-lhe ou não danos.
Patogénese	Estudo da origem de uma doença e dos mecanismos que levam ao seu desenvolvimento.
Patogenicidade	Capacidade de causar doença.
Patogénico	Com capacidade de causar uma doença.
Pavilhão auricular	Orelha. Parte externa do ouvido.
Periostite	Inflamação do perióstio (membrana que envolve os ossos).
Placa	Lesão sólida, relativamente extensa e pouco elevada na superfície cutânea. Resulta frequentemente da confluência de pápulas ou nódulos.
Placas de <i>Peyer</i>	Folículos linfáticos localizados no intestino delgado.
Plasmócito	Célula da linhagem dos linfócitos B, especializada na produção de imunoglobulinas (anticorpos).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Pneumonite intersticial	Inflamação dos tecidos que envolvem as vias aéreas dos pulmões.
Poliartrite	Inflamação de várias articulações.
Polimorfismo	Que apresenta aspectos ou formas diferentes.
Prevalência	Número total de casos, geralmente no período de um ano.
Pró-fármaco	Substância inactiva que é transformada, por meio de reacções químicas num ser vivo, numa substância activa (fármaco).
Profilaxia	Conjunto de medidas que têm como finalidade prevenir o aparecimento de uma doença. Prevenção.
Protease	Enzima hidrolítica que fragmenta proteínas.
Proteinúria	Presença de proteínas na urina, numa quantidade superior ao normal.
Protozoário	Protista. Microorganismo unicelular dotado de núcleo.
Provírus	Precursor de um vírus. Genoma viral que está integrado no ácido desoxirribonucleico (em inglês, DNA) da célula infectada, num estado de latência.
Pruriginoso	Que provoca prurido (comichão).
Purinas	Grupo de compostos químicos que inclui a adenina e a guanidina, as quais entram na composição do ácido desoxirribonucleico (em inglês, DNA).
Quimiotaxia	Fenómeno no qual as células se movimentam na direcção da maior concentração de uma substância química (quimiocina ou outro agente quimioattractor).
Renal	Referente ao rim.
Reservatório	Local ou ser vivo no qual reside o agente infeccioso.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Ribonuclease	Enzima que fragmenta moléculas de ácido ribonucleico (em inglês, RNA).
Ribossoma	Estrutura presente em grande número no citoplasma e em alguns organelos, onde ocorre o processo de tradução.
Rinite	Inflamação da mucosa nasal.
Satélite	Designação dada a uma lesão menor situada junto de outra de maior importância.
Serodiscordante	Um indivíduo está infectado com o vírus da imunodeficiência humana (em inglês, HIV) e o parceiro sexual não está infectado.
Seronegativo	Indivíduo que não está infectado com o vírus da imunodeficiência humana (em inglês, HIV).
Sistema linfático	Este sistema é composto por uma rede de vasos que recolhem o líquido que saiu do sangue para os tecidos (linfa), devolvendo-o à circulação sanguínea.
Tecido	Conjunto de células do mesmo tipo, com uma determinada actividade e função específica.
Tegumento	Tecido ou tecidos que envolvem a superfície do corpo ou certas estruturas anatómicas.
Telangiectásica	Relativo às telangiectasias: pequenos vasos sanguíneos superficiais dilatados, que se tornam visíveis à superfície da pele.
Tempo de semi-vida	Tempo que demora uma substância a perder metade da sua actividade. Em Medicina equivale à redução para metade da concentração de um fármaco no sangue.
Teratogénico	Substância que provoca malformações congénitas (existentes desde o nascimento ou antes deste).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Tolerância imunológica	Falta de resposta por parte do sistema imunitário a um antígeno que, em regra, a desencadeia.
Tradução	Processo no qual a informação genética contida numa molécula de ácido ribonucleico (em inglês, RNA) é, num ribossoma, traduzida numa sequência de aminoácidos para dar origem a uma determinada proteína.
Transaminases	Transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP). Enzimas cuja concentração aumenta no sangue como resultado de lesões no fígado.
Transcrição	Processo pelo qual uma molécula de ácido ribonucleico (em inglês, RNA) é sintetizada usando uma molécula de ácido desoxirribonucleico (em inglês, DNA) como molde.
Transcriptase reversa	Enzima do vírus da imunodeficiência humana (HIV) que realiza um processo inverso ao da transcrição. Sintetiza uma molécula de ácido desoxirribonucleico (em inglês, DNA) usando uma molécula de ácido ribonucleico (em inglês, RNA) como molde.
Tripanossoma	Protozoário do género <i>Trypanosoma</i> que, tal como o género <i>Leishmania</i> , pertence à família <i>Trypanosomatidae</i> . <i>T. cruzi</i> é o agente etiológico da doença de Chagas e <i>T. brucei</i> é o agente etiológico da doença do sono.
Trombocitopénia	Diminuição do número de plaquetas no sangue.
Tropismo	Infecção selectiva de certos organismos ou tecidos, por um microorganismo, através da interacção específica das suas proteínas com os receptores das células hospedeiras.
Uveíte	Inflamação da úvea, camada média do olho.
Vacúolo parasitóforo	Compartimento com propriedades semelhantes aos lisossomas (fagolisossoma) contendo o parasita.

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Glossário

Válvula estomodeal	Presente nos insectos, regula a passagem dos alimentos do intestino anterior para o intestino médio.
Velho Mundo	Europa, Ásia e África.
Vesícula	Pequena elevação da pele, com conteúdo líquido.
Zimodemo	Grupo de organismos com o mesmo padrão de mobilidade de enzimas intracelulares, demonstrado por um método de electroforese.
Zoonótico	Um animal serve de reservatório.

Capítulo 1 - Introdução

1.1 - Objectivos

O objectivo desta monografia foi explorar os mecanismos envolventes no estabelecimento destas infecções, as interações entre as duas infecções e o sistema imunitário e, como resultado, a influência destes processos na clínica, no tratamento e na prevenção da co-infecção HIV-*Leishmania*.

1.2 - Material e Métodos

A elaboração da presente monografia teve como base a análise, interpretação e síntese de vários artigos científicos originais ou de revisão, bem como a consulta de páginas na internet, publicados no período compreendido entre 1993 e 2017.

Para o acto de pesquisa foram utilizadas as seguintes palavras-chave: *Leishmaniose*, *HIV*, *Co-infecção*, *Patogénese* e *Tratamento*.

As fontes para a obtenção de bibliografia electrónica foram as plataformas: PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/); o CDC (www.cdc.com); a Direcção-Geral de Saúde (www.dgs.pt) e a Organização Mundial de Saúde (www.who.int/en/). Esta pesquisa foi realizada no período compreendido entre o dia 1 de Agosto de 2016 e dia 31 de Outubro de 2017.

Esta monografia está de acordo com o disposto no regulamento interno de elaboração e apresentação de Monografias do MICF 2017.

1.3 - Introdução

A Leishmaniose é uma designação comum para as doenças provocadas pelos protozoários do género *Leishmania* (1–3). A transmissão é feita pela picada de um flebótomo ou flebotómíneo infectado (1,2), em geral, por um ciclo zoonótico. Algumas espécies têm um ciclo predominantemente antroponótico: *L. tropica* (4) e *L. donovani*, esta última presente na África Oriental e no subcontinente indiano (4,5).

O principal reservatório do parasita, no ciclo zoonótico, é o cão e a estimativa, em 2002, era de cerca de 2,5 milhões de cães infectados no sul da Europa (Portugal, Espanha, França e Itália) e, a maior prevalência nos cães, em certas regiões, aumenta localmente o risco de haver casos humanos (6).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 1 – Introdução

A Leishmaniose não é uma doença recente, tendo sido encontrado *Leishmania donovani* em múmias egípcias (2000 a.C.) e um antepassado da *Leishmania* spp. foi detectado em sangue de réptil num flebotomíneo fossilizado em âmbar com cerca de 100 milhões de anos (da era dos dinossauros, Cretáceo) (7). Contudo, o agente causador da doença só foi descoberto em 1900-1903 com os trabalhos de William Leishman e Charles Donovan ao investigarem um organismo semelhante aos tripanossomas, que passaria a ser designado *Leishmania donovani* (8).

As apresentações clínicas da Leishmaniose podem ir desde uma única lesão cutânea a uma grave doença sistémica. Divide-se assim em Leishmaniose cutânea (LC) quando só apresenta lesões cutâneas ou mucocutâneas e em Leishmaniose visceral (LV) no caso de doença sistémica (4). Em indivíduos imunocompetentes, muitos dos casos são assintomáticos (9).

No mundo, um total de 36,7 milhões de pessoas estão infectadas com o vírus da imunodeficiência humana (HIV, sigla em inglês) (10). Casos de co-infecção foram reportados em 35 países endémicos para LV (11). O diagnóstico de LV é mais difícil nesta co-infecção e esta última apresenta menor probabilidade de cura, maior toxicidade medicamentosa, maior probabilidade de recorrências, e maiores números de óbitos. Cerca de metade dos co-infectados desenvolvem critérios de síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) dentro de 2 meses após o diagnóstico de LV (12).

Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

2.1 – Epidemiologia

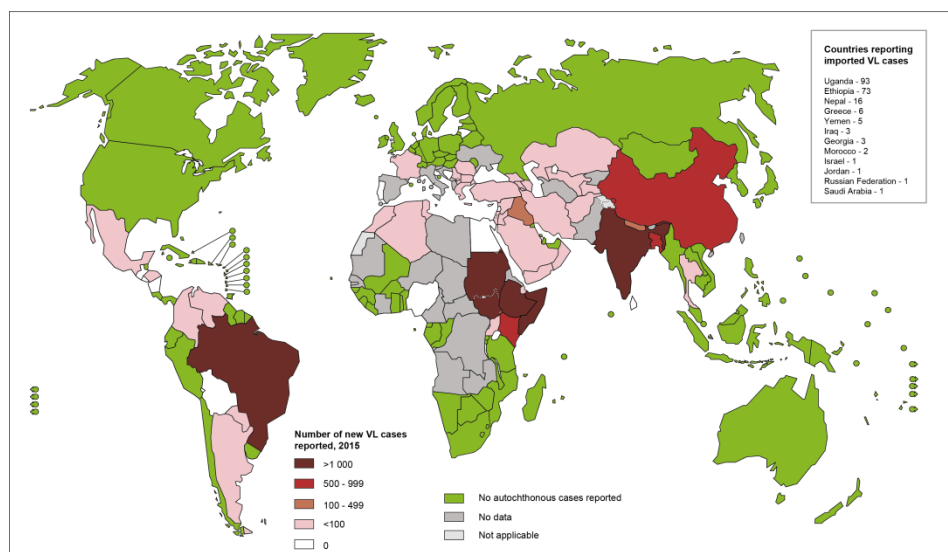
A Leishmaniose é endémica em 98 países e em 3 territórios (Taiwan, Faixa de Gaza e Cisjordânia) (7). Nem todos os casos de Leishmaniose são reportados. Deste modo, aplicam-se factores de subnotificação empíricos para gerar dados estimados que devem ser analisados com precaução.

A prevalência de Leishmaniose é maior em populações com condições socioeconómicas desfavorecidas (11) e apresenta custos acrescidos para as famílias afectadas (13,14). Outros factores de risco incluem a malnutrição, alterações climáticas, migrações de pessoas, conflitos diversos e imunossupressão ou imunodeficiência (11).

Segundo J. Alvar et al. (2012) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), com os dados obtidos até 2010, estimavam-se que 0,2 a 0,4 milhões de novos casos (incluindo recorrências) de LV e, 0,7 a 1,2 milhões de novos casos de LC ocorriam anualmente em todo o planeta (15). Esta estimativa, contudo, foi baseada numa média do número de casos ao longo de 5 anos, não atendendo à tendência crescente ou decrescente desses números, além de estar desactualizada face aos actuais números de casos e dados de subnotificação (16,17). Em 2015, para a LV, foram reportados cerca de 24000 casos (mais de 35000 estimados) (Tabela 1). Esta diminuição resulta da recente diminuição no número de casos no Bangladesh, Índia e Nepal desde 2005, quando se iniciou um programa de eliminação da LV com apoio da OMS para esta região (11,18).

Mais de 80% dos novos casos de LV em 2015 concentram-se em cinco países: Índia, Sudão, Sudão do Sul, Etiópia e Brasil (Tabela 1) (Figura 1), onde a população em risco de adquirir LV é superior a 500 milhões de pessoas (16).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2017. All rights reserved.

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (CNTD)
World Health Organization



Figura 1 – A Leishmaniose visceral (LV) no mundo em 2015. A Leishmaniose visceral é mais prevalente no subcontinente Indiano, na África oriental e na América do sul. *L. donovani* é o principal agente etiológico nas primeiras duas regiões. Adaptado de (19).

O número de casos de LV tem vindo a diminuir na maioria dos países, mas nas regiões endémicas mantêm-se estável. As tendências no número de casos (Tabela 1) foram analisadas com consulta da base de dados da OMS (17): o número de casos no Sudão do Sul e países adjacentes (Somália, Etiópia, Quênia e Uganda) apresenta uma tendência para aumentar devido aos conflitos e problemas económicos nesta região (20). Como resultado, em 2015, foram registados 93 casos importados no Uganda e 73 na Etiópia (17). Portugal apresenta actualmente uma média de 10 casos/ano (2008-2015) (Figura 2)(21).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

Tabela 1 – Análise dos dados epidemiológicos de Leishmaniose visceral (LV). Os números de casos notificados são referentes a 2015 ou ao último ano reportado e foram usados os mais recentes valores de subnotificação. Foram excluídos países com número de casos reportados inferior a 50. A tendência do número de casos notificados nos últimos anos foi classificada como crescente, estável ou decrescente com referência ao número de casos do último pico (e ano). O número de casos estimados foi arredondado à próxima centena, se superior a 1000, ou à próxima dezena se inferior. Os valores indicados a laranja correspondem a números de casos notificados de anos anteriores a 2015. Os valores indicados a verde correspondem aos novos factores de subnotificação. Sub: Factor de subnotificação; Min: Mínimo(a); Max: Máximo(a); Estim: Casos estimados (multiplicação dos casos notificados com o factor de subnotificação); OMS: Organização Mundial da Saúde. Dados de (15–17). José Oliveira, 2017.

Região	País	Tendência	Casos notificados	Total na região	Sub _{Min}	Sub _{Max}	Estim _{Min}	Estim _{Max}
América	Brasil	Estável	3,289	3,381	1.2	1.8	3,900	5,900
	Paraguai	Estável	92		2	4	180	370
África Oriental	Etiópia	Crescente	1,990	9,568	1.2	1.8	2,400	3,600
	Quénia	Crescente	894		4.2	8.1	3,800	7,200
	Somália	Crescente	1,031		2	4	2,100	4,100
	Sudão	7,418 (2011)	2,813		2	4	5,600	11,300
	Sudão do Sul	Crescente	2,840		1.2	1.8	3,400	5,100
Mar Mediterrâneo	Espanha	276 (2013)	106	313	2	4	210	420
	Grécia	82 (2014)	64		1.2	1.8	80	120
	Itália	Estável	62		1.2	1.8	70	110
	Marrocos	Estável	81		2	4	160	320
Ásia	China	Crescente	514	1,072	2	4	1,000	2,100
	Geórgia	182 (2007)	63		2	4	130	250
	Irão	Estável	68		2	4	140	270
	Iraque	1,843 (2010)	427		2	4	850	1,700
Ásia Meridional	Bangladesh	9,379 (2006)	544	9,249	1.2	1.8	650	980
	Índia	44,533 (2007)	8,500		1.2		10,200	10,200
	Nepal	2,229 (2003)	205		1.2	1.8	250	370
Global			23,583				35,000	54,300
2014 (dados não publicados)			30,452				43,700	67,100
Estimativa anterior da OMS			58,227				202,200	389,100

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

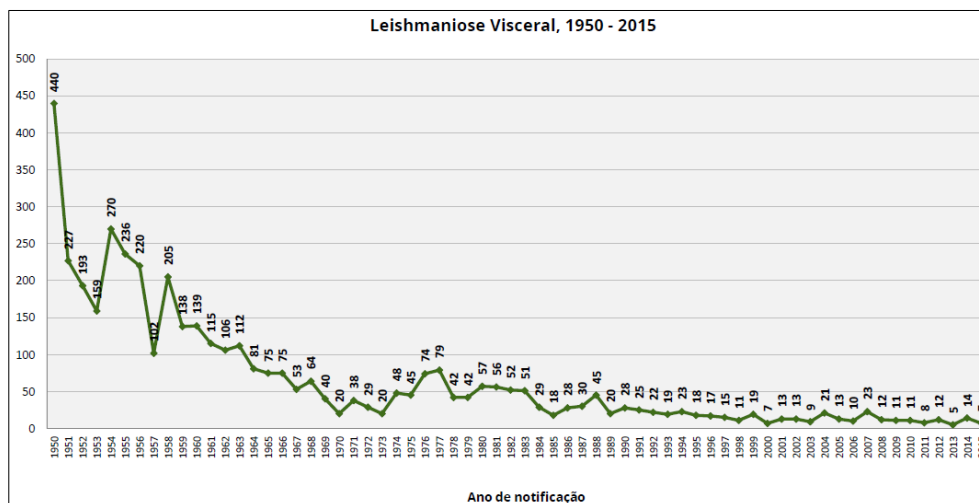
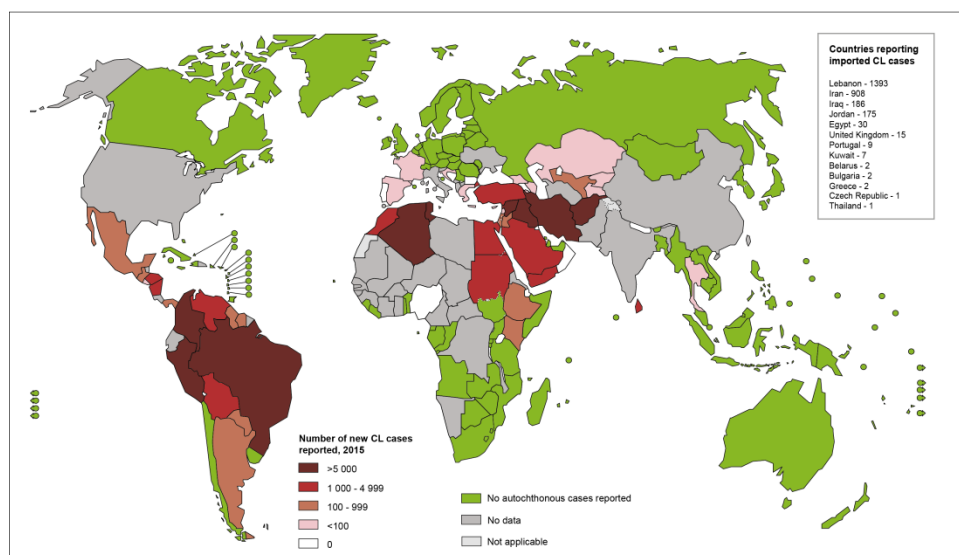


Figura 2 – Casos de Leishmaniose visceral (LV) em Portugal, 1950-2015. A média é de 10 casos/ano (2008-2015). Adaptado de (21).

Contrastando, os casos de LC encontram-se mais bem distribuídos, sendo a proporção de casos semelhante entre a América, a Ásia e a região circundante ao mar Mediterrâneo (Figura 3). Os nove países com maior número de casos de LC, Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Irão, Iraque, Peru, Síria e Tunísia, juntos contabilizam actualmente mais de 80% dos casos. Em 2015 foram reportados cerca de 200000 casos (mais de 690000 estimados) (Tabela 2). A diferença deve-se ao aumento do número de casos no Afeganistão e no Iraque. Devido aos conflitos na Líbia, não foram reportados dados nos últimos anos. Nos países adjacentes à Síria observa-se também um aumento do número de casos. Há 1393 casos importados no Líbano, 908 no Irão e 2299 (2014) na Turquia.



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2017. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



Figura 3 – A Leishmaniose cutânea (LC) no mundo em 2015. Adaptado de (19).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

Tabela 2 – Análise dos dados epidemiológicos de Leishmaniose cutânea (LC). Os números de casos notificados são referentes a 2015 ou ao último ano reportado e foram usados os mais recentes valores de subnotificação. Foram excluídos países com número de casos reportados inferior a 500. A tendência do número de casos notificados nos últimos anos foi classificada como crescente, estável ou decrescente com referência ao número de casos do último pico (e ano). O número de casos estimados foi arredondado à próxima centena. Os valores indicados a laranja correspondem a números de casos notificados de anos anteriores a 2015. Os valores indicados a verde correspondem a factores de subnotificação desconhecidos e foram assumidos os maiores valores. Sub: Factor de subnotificação; Min: Mínimo(a); Max: Máximo(a); Estim: Casos estimados (multiplicação dos casos notificados com o factor de subnotificação). Dados de (15–17). José Oliveira, 2017.

Região	País	Tendências	Casos notificados	Total na região	Sub _{Min}	Sub _{Max}	Estim _{Min}	Estim _{Max}
América	Bolívia	Estável	2,231	45,373	2.8	4.6	6,200	10,300
	Brasil	Estável	19,395		2.8	4.6	54,300	89,200
	Colômbia	11,586 (2014)	7,541		2.8	4.6	21,100	34,700
	Costa Rica	Crescente	2,150		2.8	4.6	6,000	9,900
	Equador	1,735 (2009)	1,175		2.8	4.6	3,300	5,400
	Guatemala	Estável	514		2.8	4.6	1,400	2,400
	Honduras	Estável	2,040		2.8	4.6	5,700	9,400
	Nicarágua	3,035 (2013)	1,925		2.8	4.6	5,400	8,900
	Panamá	3,221 (2011)	930		2.8	4.6	2,600	4,300
	Peru	11,204 (2011)	5,459		2.8	4.6	15,300	25,100
	Venezuela	Estável	2,013		2.8	4.6	5,600	9,300
Mar Mediterrâneo	Argélia	Crescente	7,523	73,444	2.8	4.6	21,100	34,600
	Egipto	Crescente	2,043		2.8	4.6	5,700	9,400
	Líbia	Crescente	1,500		2.8	4.6	4,200	6,900
	Marrocos	Estável	2,809		2.8	4.6	7,900	12,900
	Síria	71,996 (2013)	50,972		2.8	4.6	142,700	234,500
	Tunísia	Crescente	6,611		2.8	4.6	18,500	30,400
	Turquia	Crescente	1,986		2.8	4.6	5,600	9,100
Ásia	Afganistão	Crescente	29,392	77,077	5	10	147,000	293,900
	Arábia Saudita	2,190 (2014)	1,490		2.8	4.6	4,200	6,900
	Iémen	5,000 (2014)	4,063		5	10	20,300	40,600
	Irão	Crescente	18,607		2.8	4.6	52,100	85,600
	Iraque	Crescente	18,884		5	10	94,400	188,800
	Paquistão	12,938 (2011)	2,850		2.8	4.6	8,000	13,100
	Sri Lanka	1,367 (2014)	1,283		2.8	4.6	3,600	5,900
	Usbequistão	Estável	508		5	10	2,500	5,100
África	Burquina Faso	1,389 (2011)	947	4,450	5	10	4,700	9,500
	Sudão	Crescente	3,503		5	10	17,500	35,000
Global			200,344				687,000	1,231,000
2014 (dados não publicados)			171,860				545,600	948,600
Estimativa anterior			214,036				690,900	1,213,300

De notar a existência de subnotificação de casos de LV, principalmente em África (15). Isto deve-se a deficiências nos sistemas de saúde (com populações negligenciadas), a ausência ou erros de diagnóstico (a malária, por exemplo, tem uma sintomatologia semelhante

e picos de incidência que podem ser sobreponíveis), entre outras razões (12). No caso da Índia, no estado de Bihar, 87,7% dos casos não foram notificados em 2003 (22), o que diminuiu para 76,0% em 2006, já pouco após o arranque do programa de eliminação da LV (23). Actualmente é estimável uma diminuição da taxa de subnotificação, na ordem de 1,2%, resultante das recentes políticas (ou seja, só 16,7% de casos não notificados), o que reduz significativamente as estimativas dos números de casos (16). Segundo um estudo realizado em 2008, a maioria dos doentes com LV na Índia recorria em primeiro lugar a profissionais não qualificados e, em média, somente ao fim de 40 dias, desde o surgimento dos sintomas, é que o indivíduo se dirigia ao centro de saúde comunitário. Uma vez neste, cerca de 41,7% eram reencaminhados a realizar os testes de diagnóstico no sector privado (13). Este panorama poderá ter-se alterado nos últimos anos, como aconteceu no Bangladesh, resultante das recentes políticas no sector público, com a introdução de testes rápidos e medicação oral com miltefosina (24). Os casos de LC apresentam uma maior subnotificação, atendendo à sua menor gravidade.

Assumindo uma mortalidade de cerca de 10% e que todas as mortes são devidas à LV, a estimativa naquele ano era cerca de 20-40 mil mortes por ano de LV (15), já no contexto actual é cerca de 5 mil mortes anuais.

2.2 – Classificação e morfologia

O género *Leishmania* pertence à família *Trypanosomatidae* e subdivide-se em 5 subgéneros e complexos: *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania*, *Paraleishmania* e o complexo *L. enriettii*. Pertencem a este género 53 espécies (sem contar com os sinónimos) sendo 20 restritas ao Novo Mundo, 30 ao Velho Mundo (incluindo um isolado recente em Gana e “*L. siamensis*”), 2 de distribuição global (*L. infantum* e *L. martiniquensis*) e 1 na Austrália (Figura 4). Destas 53 espécies, 31 foram encontradas em mamíferos, das quais 20 podem infectar o Homem. O subgénero *Sauroleishmania* só infecta o vector e répteis (7).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica, Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

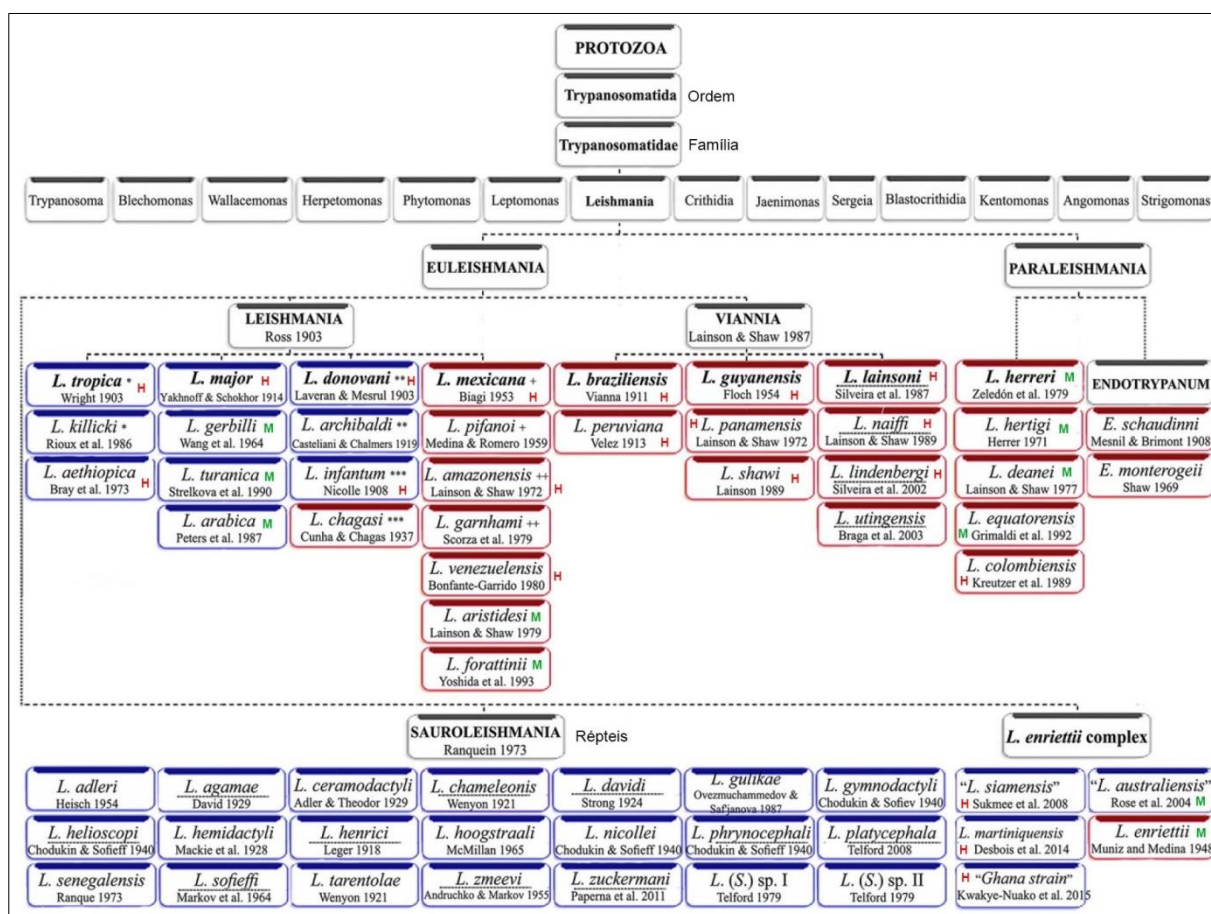


Figura 4 – Classificação do género *Leishmania*. O género *Leishmania* inclui 53 espécies. Destas, 20 são patogénicas para o Homem. *L. donovani* e *L. infantum* são os principais agentes etiológicos da Leishmaniose visceral (LV). A maioria dos parasitas “*L. siamensis*” reportados são *L. martiniquensis*, que está também presente no Novo Mundo (ver texto). *, +: Igual número de asteriscos (*) ou do sinal mais (+) indica qual espécie é sinónima de qual; Sublinhado: Sem classificação final; Nomes entre aspas (“ ”) não são oficiais e não têm descrição formal; Azul: Velho Mundo; Vermelho: Novo Mundo; H: Infecta o homem e mamíferos; M: infecta mamíferos. Adaptado de M. Akhoundi *et al*, 2016.

O complexo *L. enriettii* apresenta algumas espécies emergentes. A mais recente espécie isolada em Gana é responsável por muitos casos de LC no país (25). Os parasitas anteriormente referidos na literatura como “*L. siamensis*” (sem descrição formal) aparentam ser na verdade *L. martiniquensis*, excepto um isolado da Tailândia (com o código de acesso no GenBank: JX195640) que aparenta ser uma nova espécie. *L. martiniquensis* pode causar LC e LV (em menor frequência), tendo sido isolado no Homem em Martinica e na Tailândia, e também em mamíferos na Alemanha, Suíça e Estados Unidos da América (26,27).

O subgénero *Viannia* engloba o anterior complexo *L. braziliensis* e estas espécies são responsáveis por LC e Leishmaniose mucocutânea na América.

L. donovani e *L. infantum* são os principais agentes etiológicos de LV (2). Portugal e Espanha foram responsáveis, na Era dos Descobrimentos (há mais de 500 anos), pela disseminação de *L. infantum* na América (28).

Os protozoários da ordem *Kinetoplastida*, que inclui o género *Leishmania*, possuem uma estrutura celular única, o cinetoplasto, formado por um segmento da sua longa e única mitocôndria. Nesta estrutura é abundante a presença de DNA (kDNA), específico dos membros desta ordem. O género *Leishmania* apresenta ainda um único núcleo e um único flagelo que nasce junto ao cinetoplasto.

Ao longo do seu ciclo de vida a *Leishmania* spp. apresenta duas principais formas (Figura 5): uma forma amastigota que adquire quando presente no interior das células dos vertebrados, e uma forma promastigota extracelular, quando se desenvolve no tubo digestivo dos vectores (insectos flebotomíneos), bem como nos meios de cultura.

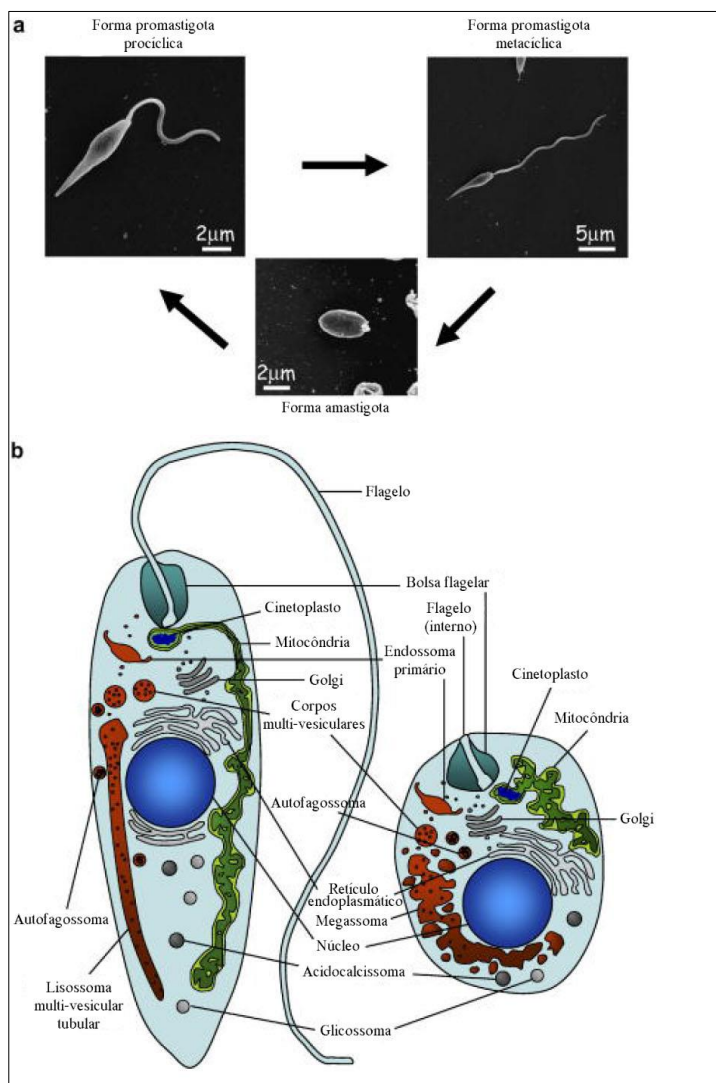


Figura 5 – Alterações morfológicas e estrutura celular da *Leishmania* spp. (a) Imagens das principais formas de *L. major*, obtidas por microscópio electrónico. (b) Representação esquemática da estrutura celular da forma promastigota (à esquerda) e da forma amastigota (à direita). Adaptado de S. Besteiro, 2007.

A forma amastigota apresenta pequenas dimensões (cerca de 2,1 a 3,2µm, dependendo da espécie), um corpo celular levemente achatado e um contorno ovóide, elíptico ou

fusiforme. O núcleo é excêntrico, redondo. O cinetoplasto com a forma de um disco convexo-côncavo é bem visível, porém o curto flagelo incluído numa invaginação da membrana chamada de bolsa flagelar, não é geralmente visível ao microscópio (2). Esta estrutura contém um grande compartimento designado de megassoma com propriedades semelhantes aos lisossomas, cujo tamanho e número varia com a espécie. Os autofagossomas estão envolvidos na macroautofagia que é essencial para a diferenciação entre as várias formas do parasita e, estão adaptados a sobreviver em meios ácidos (29).

As formas promastigotas têm dimensões maiores (14 a 20µm), um núcleo central e um cinetoplasto situado próximo da extremidade anterior de onde emerge o flagelo (2). Estas formas deslocam-se com o flagelo à frente e corpo celular atrás, traccionado pelo flagelo (30). As formas promastigotas procíclicas não são infecciosas para os mamíferos, ao contrário das formas promastigotas metacíclicas que são infecciosas, contudo não têm a capacidade de se multiplicarem e, têm uma dimensão menor mas, um flagelo mais longo (29).

Os métodos moleculares, tais como a técnica de electroforese enzimática *multilocus* (do inglês *multilocus enzyme electrophoresis*) permitem a diferenciação a um nível inferior à espécie, sendo os organismos agrupados em zimodemos. O zimodemo MON-1 de *L. infantum* é o mais frequente (cerca de 60%) e, apresenta uma grande distribuição geográfica na região circundante ao mar Mediterrâneo, em casos de LV e Leishmaniose canina (LCan). Segue-se o zimodemo MON-24, que causa sobretudo LC nessa região, contudo origina maioritariamente LV nos co-infectados com HIV. A diversidade de zimodemos é maior na Espanha e Itália, sendo também superior nos indivíduos co-infectados (12). Nestes casos, foram descritos que podem ocorrer algumas infecções atípicas induzidas por híbridos de *L. infantum* - *L. major*. Em alguns indivíduos infectados foram também isoladas espécies da família *Trypanosomatidae*, que normalmente não parasitam o Homem mas que reproduziam clinicamente a LC ou LV (12,31).

2.3 – Hospedeiros

2.3.1 – Vector

Os vectores são dípteros flebotomíneos (ordem Diptera, do Grego *di* = duas e *ptera* = asas) da família *Psychodidae* e subfamília *Phlebotominae* (2,7). São insectos pequenos, geralmente com menos de 3,5mm de comprimento, cobertos por pêlos densos, cujas asas permanecem entreabertas e ligeiramente levantadas quando pousam (em forma de “V”), em

vez de cruzarem sobre o dorso (Figura 6). A origem do nome inglês *sandfly* deve-se à cor amarela-pálida do insecto, contudo cada tonalidade está associada a uma espécie (32).



Figura 6 – *Phlebotomus papatasi* durante uma refeição de sangue. A refeição é visível no abdómen transparente distendido. Observa-se numerosos pêlos e a posição das asas em “V”. Adaptado de (33).

No Velho Mundo estão presentes os géneros *Phlebotomus*, *Sergentomyia* e *Chinius*. A maioria dos flebotomíneos é do género *Phlebotomus* que predomina no paleártico. O género *Chinius* só existe em elevadas altitudes e o género *Sergentomyia* tem preferência por vertebrados de sangue frio, podendo algumas espécies ocasionalmente também se alimentarem em mamíferos. O género *Sergentomyia* é dominante nas regiões tropicais onde *Phlebotomus* spp. é raro.

Por outro lado, no Novo Mundo existem os géneros *Lutzomyia*, *Brumptomyia* (não pica os seres humanos) e *Warileya*. O género *Lutzomyia* (Lu.) é predominante nas florestas tropicais da América Central e Sul, tendo divergido do género *Phlebotomus* (7).

Os flebotomíneos apresentam uma actividade sazonal, sendo encontrados em maior número nos meses de Maio a Outubro, no sul da Europa; apresentam uma actividade nocturna entre as 19h e as 7h, sendo o pico entre as 23h e as 2h (34); podem picar durante o dia se perturbados; alimentam-se de secreções açucaradas de plantas, sendo que as fêmeas requerem pelo menos uma refeição de sangue para completar o desenvolvimento dos ovos, excepto algumas espécies e, o ataque no hospedeiro é silencioso, ao contrário de outros insectos (32).

Estes vetores residem em locais húmidos, escuros e frescos, como por exemplo, nas fissuras de rochas ou tocas de animais, em zonas áridas, e raízes aéreas ou folhas secas nas florestas. Também podem ser encontrados em zonas de cultivo (por exemplo, de café), habitações próximas de bosques ou mesmo em bairros marginais de cidades (35).

Só as fêmeas adultas é que se alimentam de sangue e, posteriormente, põem os ovos no solo ou em locais húmidos (2). O intervalo que vai desde do ovo até à forma adulta é de 35-69 dias (32) e, o período de tempo desde da alimentação de sangue até que seja possível a

transmissão do parasita é cerca de 1 a 3 semanas (36). Em vista do tempo requerido para o crescimento abundante dos flagelados e da vida curta dos insectos adultos (cerca de 2 semanas) é necessário que o vector se infecte muito cedo para que possa efectuar a transmissão. De notar que a percentagem de insectos infectados é geralmente baixa (2).

Os principais vectores de LV são: *Lu. longipalpis* no continente Americano (2), *P. argentipes* na Índia (32), *P. orientalis* e *P. martini* na África oriental (36), *P. perniciosus* e *P. ariasi* em Portugal (37). *P. orientalis* está presente em savanas no Sudão e norte da Etiópia, enquanto *P. martini* e *P. celiae* preferem o solo húmido de montes de térmitas no sul da Etiópia e Quénia (36).

Outros potenciais vectores incluem o *Culicoides* spp. (díptero) (38,39), *Forcipomyia* (*Lasiohelea*) Kieffer (díptero) (40), *Rhipicephalus sanguineus* (carraça) (41–44) e *Ctenocephalides felis felis* (pulga) (44,45).

2.3.2 – Hospedeiros vertebrados

Os hospedeiros vertebrados são mamíferos como por exemplo humanos (7), canídeos, equinos, muares (mulas ou machos) (2), raposas (28), roedores (2,28), marsupiais (7,28), damão (hiracóides) (7), guaxinim (procionídeos) (36), preguiças, tamanduás (2), sacarrabos, gineta (gato-bravo), marta, lince-ibérico, lebre-ibérica (46), gatos (47), entre outros.

A circulação do parasita nas povoações estabelece-se por meio de um ciclo doméstico (envolvendo o vector e o cão doméstico) e/ou por um ciclo peridoméstico (cães vadios e canídeos selvagens). O risco de infecção é maior nas zonas rurais devido a maior exposição ao vector (6).

A LCan apresenta uma elevada prevalência na população canina: cerca de 63-80% dos cães estão infectados contudo, somente 13% desenvolvem a doença (48). Os cães infectados (Figura 7) podem permanecer assintomáticos durante anos mas, continuando infecciosos para o vector, enquanto que outros apresentam uma lenta e progressiva evolução da doença (6).

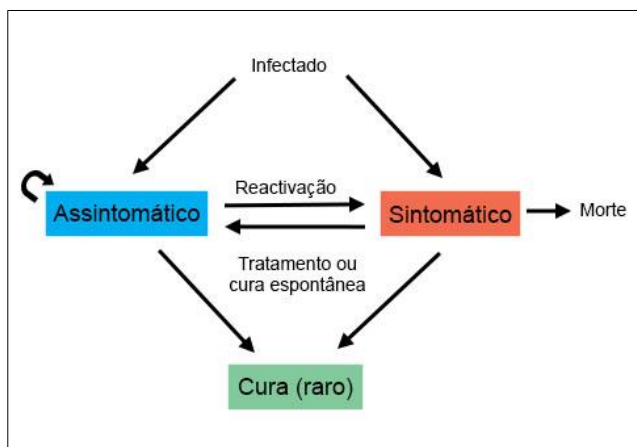


Figura 7 – Evolução clínica da Leishmaniose no cão. Os cães infectados podem desenvolver a doença ou permanecer assintomáticos durante anos. O tratamento geralmente não consegue eliminar todos os parasitas e uma infecção subclínica (assintomática) persiste. Recorrências da doença são frequentes. José Oliveira, 2017.

Os sintomas e sinais clínicos são semelhantes aos da LV humana: ao fim de 2-4 meses de período de incubação podem apresentar dermatites, linfadenopatias (nomeadamente, aumento do volume dos nódulos linfáticos), onicogrifose, perda de peso, caquexia, doença ocular (nomeadamente conjuntivites), dificuldades de locomoção (6) (devido a atrofia muscular e lesões nos ossos e articulações), febre, esplenomegália, doença renal, hemorragias (nomeadamente da mucosa nasal) e anemia (48). A doença renal é a principal causa de morte dos cães infectados (49).

Cerca de 30% dos cães tratados, mesmo sem sinais clínicos, três a cinco meses após o último tratamento, readquirem a capacidade de poderem infectar o vector e, um ano após o tratamento, as recorrências da doença ocorrem em cerca de 80% dos cães. Estes factores permitem a continuidade da transmissão e aumentam o risco de resistência do parasita aos fármacos (6).

A transmissão do parasita pode ainda ocorrer raramente entre vertebrados, na ausência de um vector, por mordeduras (contacto de sangue) (50,51), transmissão vertical (52–54), transfusão de sangue (55,56), transmissão sexual (muito raro) (54,56,57) ou pela partilha de seringas contaminadas nos utilizadores de drogas injectáveis (com risco concomitante de infecção pelo HIV) (56).

2.4 – Ciclo de vida

A *Leishmania* spp. apresenta um ciclo de vida heteróximo (Figura 8): no vector coloniza o tracto digestivo (7) e nos vertebrados infecta macrófagos, monócitos, neutrófilos e células dendríticas (58).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogênese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

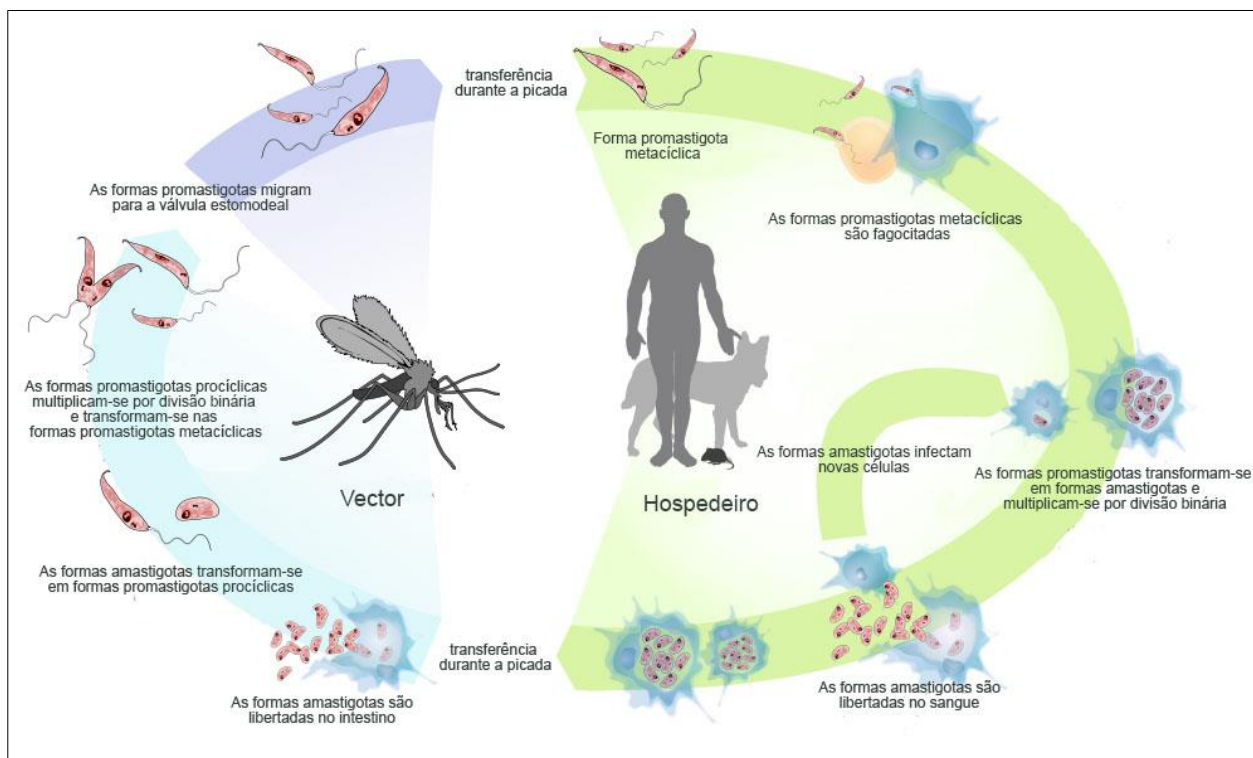


Figura 8 – Ciclo de vida da *Leishmania* spp. Imagem do domínio público, modificada por José Oliveira, 2017.

A infecção primária ocorre quando um flebotomíneo colonizado com formas promastigotas metacíclicas de *Leishmania* spp. pica um hospedeiro vertebrado. A fêmea perfura a pele, criando uma poça de sangue, e a saliva do insecto previne a coagulação (59). Após cada esforço para ingerir sangue, os músculos encarregados da sucção relaxam e causam a regurgitação do sangue aspirado misturado com os parasitas, ocorrendo então a inoculação. Os parasitas são rapidamente fagocitados pelos macrófagos e outras células do sistema imunitário que são incapazes de os destruir (2), de seguida, residem nessas células em compartimentos designados vacúolos parasitóforos onde adquirem a forma amastigota e multiplicam-se por divisão binária (59). Eventualmente, o grande número de parasitas e os danos celulares provocados são suficientes para a célula romper e libertar os parasitas, que podem então infectar novas células (2).

O vector ao picar o vertebrado ingere uma refeição de sangue contendo macrófagos e outras células infectadas com o parasita na sua forma amastigota. No intestino médio do insecto (Figura 9), a refeição de sangue é rodeada por uma membrana ou matriz peritrófica (60). Esta matriz protege-os parcialmente das enzimas digestivas nas primeiras horas, período em que os parasitas estão mais vulneráveis (59,60). Até cerca de 50% das formas amastigotas são destruídas nas primeiras 24h após a refeição de sangue. O parasita consegue diminuir ou atrasar a produção das enzimas digestivas e quando adquire a forma promastigota procíclica

os proteofosfoglicanos (PFG) presentes na superfície do parasita oferecem protecção à acção das enzimas.

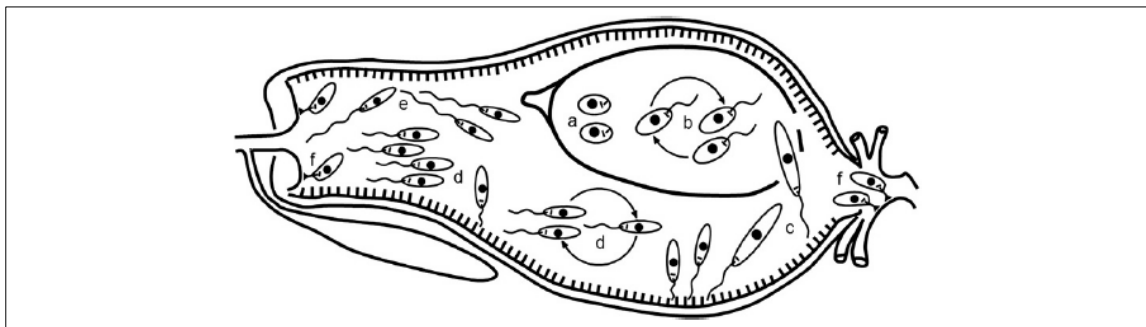


Figura 9 – Desenvolvimento da *Leishmania* spp. no tracto digestivo do vector. O tracto digestivo divide-se em três partes: intestino anterior, médio e posterior. O intestino médio do flebotomíneo é constituído por um epitélio composto por uma única camada de células com a face interior revestida por microvilosidades. O intestino anterior (incluindo a válvula estomodeal) e o intestino posterior são, por contraste, revestidos por quitina. Durante a digestão, a refeição de sangue encontra-se rodeada pela matriz peritrófica. As formas amastigotas (a) na refeição de sangue diferenciam-se nas formas promastigotas procíclicas (b) que se multiplicam e se transformam nas longas formas promastigotas nectomonadas (c). No fim da digestão as enzimas do flebotomíneo desfazem a matriz peritrófica e as formas promastigotas nectomonadas escapam pelo lado posterior da matriz. Adere-se às microvilosidades e diferenciam-se nas curtas formas promastigotas leptomonadas (d) que se multiplicam. Diferenciam-se posteriormente nas infecciosas formas promastigotas metacíclicas (e) ou nas formas promastigotas haptomonadas (f) que aderem ao revestimento de quitina na válvula estomodeal. Nos subgéneros *Viannia* e *Sauroleishmania* as formas promastigotas haptomonadas também aderem ao revestimento de quitina no intestino posterior. Por fim, um grande número de formas promastigotas nectomonadas secretam filamentos de proteofosfoglicanos que vão obstruir o intestino médio. Esta obstrução e a destruição da válvula facilitam o refluxo dos parasitas numa subsequente alimentação de sangue. Adaptado de A. Dostálová, 2012.

Estímulos como a diminuição da temperatura ou o aumento do pH (as enzimas digestivas do insecto actuam num meio alcalino) promovem a diferenciação nas formas promastigotas procíclicas (60). Estas multiplicam-se por divisão binária quando estimulada pelos sucos vegetais ou açucarados posteriormente ingeridos pelo insecto (2).

Depois de aumentarem consideravelmente em número, 48-72h depois da refeição de sangue, começam a diferenciarem-se nas longas e muito móveis formas promastigotas nectomonadas que libertam-se da matriz (degradada por enzimas do vector) (60) e migram em direcção à válvula estomodeal ou proventricular, localizada entre o intestino anterior e o intestino médio (2,60). Distinguem-se posteriormente em formas promastigotas leptomonadas mais curtas para permitir que se multipliquem mais facilmente.

As formas promastigotas nectomonadas e as leptomonadas conseguem aderir às microvilosidades, posicionando o flagelo (localizado na extremidade anterior) entre estas, de forma a não serem expulsas do intestino. As formas promastigotas leptomonadas perdem esta capacidade ao adquirir a forma promastigota metacíclica que possui uma maior capacidade de locomoção. Os lipofosfoglicanos (LFG) são moléculas encontradas na superfície das formas promastigotas, incluindo o flagelo, que foram implicadas nesta adesão e a sua estrutura modifica-se na diferenciação para a forma promastigota metacíclica (60).

Um grande número de formas promastigotas nectomonadas e metacíclicas acumulam-se no intestino médio, encontram-se rodeadas por filamentos de PFG (secretados principalmente pelas formas promastigotas nectomonadas), criando um gel que obstrui o intestino do mosquito.

As formas promastigotas leptomonadas podem diferenciar-se nas formas promastigotas haptomonadas que aderem à válvula estomodeal pela terminação do flagelo e, ao danificarem-na, facilitam o refluxo dos parasitas (59,60). A ingestão de sangue é dificultada e o vector precisa de picar mais vezes. Ao picar, a regurgitação do sangue aspirado realiza a inoculação no vertebrado e os parasitas, ao serem fagocitados, retornam à sua forma inicial amastigota (2) e, estes, também podem estar presentes na saliva do insecto (36).

2.5 - Patogénese

A patogenicidade varia com diferentes factores: é variável entre espécies ou dentro da mesma espécie, e o quadro clínico depende igualmente dos factores do hospedeiro (2).

No hospedeiro vertebrado, os linfócitos T auxiliares (T_H) após terem contacto com um antígeno, diferenciam-se em diferentes sub-populações, consoante as citocinas presentes no meio (Figura 10)(61). A resposta imunitária protectora à Leishmaniose é mediada pelos linfócitos T auxiliares do tipo 1 (T_{H1}) (12,35), enquanto que a resposta imunitária mediada pelos linfócitos T auxiliares do tipo 2 (T_{H2}) aumenta a susceptibilidade a infecções intracelulares como a Leishmaniose, desactivando os macrófagos e prevenindo a produção das citocinas do tipo T_{H1} (35). Na LV há uma mistura das respostas T_{H1} e T_{H2} (36), contudo a resposta T_{H2} tende a dominar quando ambas são activadas (35). O controlo da infecção nos cães depende, tal como nos humanos, dos linfócitos T_H ($CD4^+$) (6).

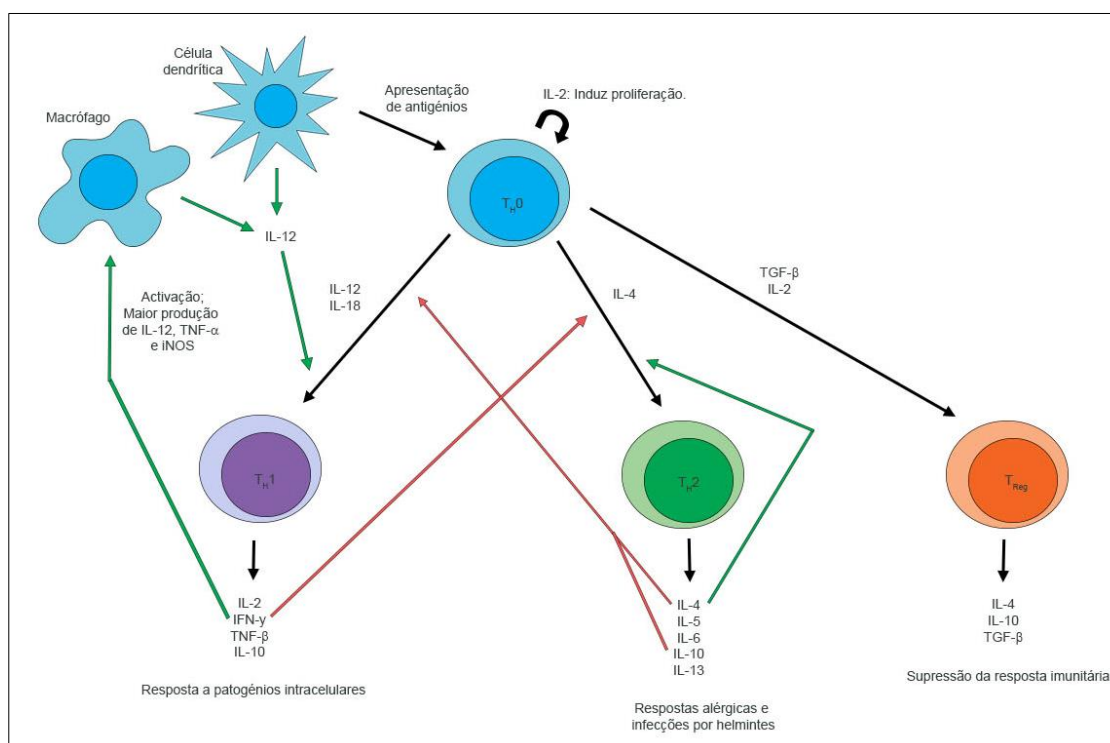


Figura 10 – Diferenciação dos linfócitos T auxiliares. Após uma infecção, as células fagocitárias como os macrófagos e as células dendríticas, processam e apresentam os antígenos aos linfócitos T auxiliares (T_H). Estes diferenciam-se em várias subpopulações. Os linfócitos T_{H1} promovem uma resposta a agentes patogénicos intracelulares como vírus e a *Leishmania* spp., enquanto os linfócitos T_{H2} inibem essa resposta, favorecendo a produção de anticorpos. Na Leishmaniose visceral e em co-infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), resultante da exagerada resposta pró-inflamatória, há uma maior presença da resposta T_{H2}. Seta verde: estimulação; seta vermelha: inibição. IL: interleucina; T_H: linfócito T auxiliar; TNF: factor de necrose tumoral; iNOS: sintetase induzível de óxido nítrico; IFN: interferão; TGF: factor de crescimento e transformação. José Oliveira, 2017.

Os macrófagos e as células dendríticas, após contacto com um agente patogénico intracelular como a *Leishmania* spp., produzem interleucina 12 (IL-12) que estimula a diferenciação nos linfócitos T_{H1}. Os linfócitos T_{H1} produzem IL-2, interferão gama (IFN-γ), factor de necrose tumoral beta (TNF-β) (61) e IL-10 (62). O IFN-γ estimula o processo inflamatório (incluindo o processo de hipersensibilidade retardada) e aumenta a diferenciação na subpopulação T_{H1} ao estimular a produção de IL-12 e inibir a diferenciação nos linfócitos T_{H2}. Também aumenta a capacidade de apresentação de antígenos e promove a activação dos macrófagos, os quais produzem factor de necrose tumoral alfa (TNF-α), que promove os processos inflamatórios, e sintetase induzível de óxido nítrico (iNOS), que aumenta a capacidade microbiocida dos macrófagos.

A IL-4 estimula a diferenciação na subpopulação T_{H2} que produz IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. A IL-4 produzida estimula uma maior diferenciação nesta subpopulação e a IL-4 e IL-10 também inibem a produção de IL-12, diminuindo a diferenciação na subpopulação T_{H1}. Estas citocinas estimulam os linfócitos B e os eosinófilos, aumentando a produção de anticorpos (61).

Existe também uma diferenciação induzida por factores de crescimento e de transformação beta (TGF- β) e IL-2 (62), na subpopulação de linfócitos T reguladores (T_{Reg}), que produzem IL-4, IL-10 e TGF- β (61). Estes T_{Reg} que foram encontrados em lesões cutâneas de doentes com LC (35), têm como função a supressão da resposta inflamatória, desta forma protegendo os tecidos (62).

A saliva do vector contém não só moléculas com propriedades anticoagulantes, vasodilatadoras e anti-agregantes plaquetárias para facilitar a refeição de sangue, mas também moléculas anti-inflamatórias e imunomoduladoras que ajudam no estabelecimento da infecção. Estas moléculas aumentam a quimiotaxia dos macrófagos e alteram o perfil de citocinas, promovendo uma resposta T_H2 (63). O vector ao picar destrói células, o que também atrai para o local células fagocitárias (os macrófagos) (30).

Após a inoculação do hospedeiro, os neutrófilos constituem a primeira linha de defesa (até às 72h) mas o papel que desempenham pode não ser protector (64). É então induzida a proliferação de macrófagos (hiperplasia histiocitária) e a fagocitose dos parasitas (2,12). A activação do complemento e a ligação dos seus componentes ao parasita promove a fagocitose dos parasitas pois os macrófagos e outras células possuem receptores para os mesmos. O LFG na superfície das formas promastigotas metacíclicas impede a ligação à membrana e, deste modo, leva à rotura da membrana pelas moléculas do complemento. A enzima gp63, uma protease existente na superfície das formas amastigotas e promastigotas, consegue degradar o componente C3 do complemento e assim também impedir a rotura da membrana. O LFG pode retardar a fusão do lisossoma, permitindo ao protozoário ter tempo para se diferenciar na forma amastigota. O LFP protege também o protozoário da acção dos radicais produzidos pelos macrófagos e a enzima gp63 degrada as enzimas lisossomais (30).

De seguida, a inflamação local dá origem a edema local e a um aumento da espessura da epiderme (acantose), podendo haver hiperqueratose. Ocorre posteriormente uma infiltração de plasmócitos e linfócitos no local. A imunidade celular manifesta-se tardiamente e, o seu aparecimento coincide com os primeiros sinais de regressão das lesões e com a diminuição do número de parasitas. Os anticorpos específicos produzidos durante a infecção não são protectores: a infiltração, ao longo de alguns meses, diminui a proliferação dos macrófagos e diminui o número de parasitas. A eliminação dos parasitas, a reacção inflamatória local regride e a cura envolve então processos de cicatrização e reparação que deixam uma cicatriz residual (2,12), geralmente despigmentada (30).

A hiperplasia dos macrófagos e a inflamação local podem causar necrose da epiderme e camadas subadjacentes, devido às perturbações mecânicas e tróficas decorrentes desse crescimento. A eliminação do material necrosado leva ao aparecimento de uma úlcera, que é mais frequente na Leishmaniose mucocutânea, onde há também uma maior tendência para a formação de metástases, com disseminação e colonização do parasita em áreas distantes à lesão inicial, com particular tropismo para a mucosa nasal (2,12).

Na LV a hipertrofia e hiperplasia dos macrófagos (e outras células infectadas) origina a esplenomegália e hepatomegália presentes nestes doentes. A cápsula do baço torna-se espessa e na polpa observa-se uma predominância de macrófagos que comprimem os folículos linfáticos e constroem a circulação sanguínea, podendo ser observadas algumas zonas de enfarte (2). No fígado, pode ser observada fibrose, o que contribui para a diminuição da produção de proteínas como a albumina, resultando em edema (30). Observa-se também hiperplasia nas placas de *Peyer*, podendo ocorrer necrose e formação de pequenas úlceras na mucosa intestinal (2). Nos pulmões ocorre pneumonite intersticial. Os parasitas são raros ou ausentes e origina como sintoma a tosse seca. Infecções secundárias podem originar uma broncopneumonia (30).

Com a desregulação do sistema imunitário, ocorre também na LV uma sobre-produção de imunoglobulinas inespecíficas (observando-se uma hiper-gama-globulinémia policlonal) (2,12). A deposição de imunocomplexos no rim provoca, em alguns casos, glomerulonefrite proliferativa ou nefrite intersticial. Muitos dos medicamentos usados no seu tratamento apresentam também toxicidade para o rim (65). O cão é particularmente susceptível e a deposição de imunocomplexos nos vários tecidos provoca ou agrava a já existente inflamação, originando o desenvolvimento de glomerulonefrite, miosite, poliartrite, uveíte, entre outras (49).

Com o aumento do volume do baço há uma maior sequestração e destruição de eritrócitos, plaquetas e leucócitos neste, causando a anemia, trombocitopénia e leucopénia presentes na LV. Por outro lado, a maior retenção de ferro pelos macrófagos impossibilita a criação de novos eritrócitos em número suficiente para substituir os que são destruídos. Outros factores, tais como as deficiências nutricionais de ferro, ácido fólico ou vitamina B12 também podem contribuir para causar anemia (66).

Nalguns casos raros, quando a infiltração de leucócitos e plasmócitos não conseguem desenvolver a sua função protectora, suprimindo ou reduzindo o número de parasitas, a proliferação dos parasitas continua, originando a Leishmaniose cutânea difusa (LCD). Aqui,

ocorre uma hipertrofia e hiperplasia dos macrófagos que passam a ocupar extensas áreas cutâneas, insinuando-se entre os demais elementos do tecido. Alguns autores consideram ser verdadeiros tumores (histiocitomas), sendo o citoplasma dos macrófagos rico em parasitas (2). Na LCD há predomínio da resposta T_H2 , com elevadas concentrações de IL-4, IL-10, TGF- β e TNF- α (12,35).

Já na Leishmaniose dérmica pós-Kala-azar há produção de IFN- γ , TNF- α e níveis elevados de IL-10. Observa-se também uma menor expressão dos receptores de IFN- γ e TNF- α (67).

2.6 – Clínica

A Leishmaniose apresenta duas principais formas clínicas consoante a localização do parasita nos tecidos dos mamíferos: LC ou LV. A LC engloba várias formas clínicas (2).

2.6.1 – Métodos de diagnóstico

No diagnóstico o clínico deve atender aos dados epidemiológicos para apurar se o doente precede de áreas endémicas, conciliando esta informação com os dados clínicos. Deve ser feito o diagnóstico diferencial de outras doenças com sintomatologia semelhante.

As lesões na LC podem ser confundidas com lesões presentes na tuberculose cutânea, lepra, ectima, infecções por fungos (blastomicose e esporotricose) ou infecções por espiroquetas. A LV pode ser confundida com outras doenças que provoquem febre, esplenomegália e hepatomegália como é o caso da malária, toxoplasmose, febre tifóide, esquistossomíase, doença de Chagas e histoplasmoses.

O diagnóstico clínico deve ser confirmado com um método laboratorial (2,30) que subdivide-se em métodos parasitológicos, métodos imunológicos e métodos moleculares (Tabelas 3 e 4) (68). Muitos destes métodos de diagnóstico são também utilizados no diagnóstico da LCan (69).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

Tabela 3 – Comparação dos métodos de diagnóstico de Leishmaniose visceral em imunocompetentes. IFAT: teste de imunofluorescência indirecta; DAT: teste de aglutinação directa; ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática; IGRA: ensaio de libertação do interferão-gama; PCR: reacção de polimerase em cadeia; qPCR: PCR quantitativo; LAMP: amplificação isotérmica mediada por *loop*. Adaptado de O. Singh, 2015.

	Método	Amostra	Duração do teste	Nível de perícia requerido	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Métodos parasitológicos	Aspirado esplénico	Baço	Horas	Elevado	93-99	100
	Aspirado/biopsia de medula óssea	Medula óssea	Horas	Elevado	53-86	100
	Aspirado de nódulo linfático	Nódulo linfático	Horas	Elevado	53-65	100
	Cultura	Baço ou medula óssea	Dias	Médio	97-100	100
Métodos imunológicos	IFAT	Soro/plasma	Horas	Elevado	80-100	96-100
	DAT	Soro/plasma	Dias	Médio	95	97
	ELISA	Soro/plasma	Horas	Médio	93-100	97-98
		Saliva	Horas	Médio	83	89-100
	Teste imunocromatográfico	Soro	Minutos	Baixo	96-100	90-100
		Sangue	Minutos	Baixo	96-100	91-100
		Saliva	Minutos	Baixo	82,5	85-91,5
		Urina	Minutos	Baixo	96	66-100
	Western Blot	Soro/plasma	Horas	Médio	83-94	90
Métodos moleculares	IGRA	Sangue	Dias	Médio	80-85	100
	KAtex	Urina	Horas	Médio	48-87	89-100
	PCR	Sangue	Horas	Elevado	70-100	85-99
		Esfregaço oral	Horas	Elevado	83	91
		Urina	Horas	Elevado	88	100
		Medula óssea	Horas	Elevado	95	93
	PCR ELISA	Sangue	Horas	Elevado	84	100
	qPCR	Sangue	Horas	Elevado	91-100	95-100
		Sangue	Horas	Elevado	96	90
	Oligo C-test	Nódulo linfático	Horas	Elevado	97	N/A
		Medula óssea	Horas	Elevado	97	N/A
	LAMP	Sangue	Horas	Médio	83	98
		Camada leuco-plaquetária	Horas	Médio	91	100

Tabela 4 – Comparação dos métodos de diagnóstico não parasitológicos em co-infectados. Se: sensibilidade; Esp: especificidade; IC: intervalo de confiança; DAT: teste de aglutinação directa; ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática; IFAT: teste de imunofluorescência indirecta; PCR: reacção de polimerase em cadeia. Adaptado de B Monge-Maillo, 2014 e GF Cota, 2012.

Método	Se (%)	95% IC	Esp (%)	95% IC
Western blot	84	75-91	82	65-94
DAT	81	61-95	90	66-100
ELISA	66	40-88	90	77-98
IFAT	51	43-58	93	81-99
PCR (Medula óssea)	98	93-100		
PCR (Sangue)	92	83-98	96	80-100
KAtex	85-100		96-100	

Os métodos parasitológicos utilizados são os de referência e consistem na detecção das formas amastigotas por microscopia ou cultura de amostras biológicas (12).

A microscopia óptica do aspirado de medula óssea é o método mais usado no diagnóstico parasitológico de LV. Em co-infectados com HIV, esta apresenta maior sensibilidade (67-94%) e, a observação do aspirado esplénico apresenta maior sensibilidade mas devido ao risco de hemorragias (0,1%) na colheita só pode ser realizado em infra-estruturas devidamente equipadas e por profissionais experientes. A observação do aspirado do nódulo linfático é menos sensível mas é ainda realizada na zona do Sudão onde é frequente o aumento de nódulos linfáticos na LV. A microscopia de biopsias hepáticas mostrou uma sensibilidade de 87% em co-infectados. A observação de formas amastigotas em esfregaços de sangue periférico tem a vantagem de ser um método não invasivo em co-infectados, com uma sensibilidade de 50-53%. Na co-infecção as formas amastigotas também podem ser encontradas em localizações atípicas como nos pulmões, laringe, amígdalas, tracto digestivo e líquido cefalorraquidiano (12). Na LC podem ser realizadas biopsias das lesões cutâneas atendendo que a espécie *L. braziliensis* não costuma ser abundante nas ulcerações (2).

O diagnóstico correcto deve ser feito com base na observação de 2 lâminas de esfregaços, corados com uma coloração tipo *Romanowsky*, como por exemplo a coloração de *Giemsa* ou a de *Wright*. Devem ser examinadas durante pelo menos uma hora, procurando-se a presença de formas amastigotas (12). Estes são reconhecidos pelo seu tamanho e pela presença de núcleo e de cinetoplasto (Figura 11)(26). Mesmo assim, podem ser obtidos falsos-negativos nos casos com pancitopénia. A carga parasitária também pode estar alterada se houve tratamento prévio (12).

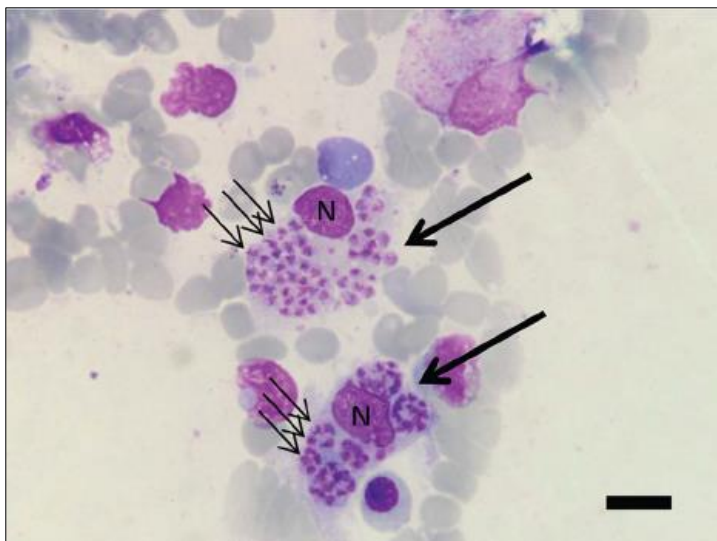


Figura 11 – Micrografia óptica de formas amastigotas de *Leishmania* spp. num aspirado de medula óssea. Observam-se numerosas formas amastigotas (setas pequenas) no citoplasma de dois macrófagos infectados (setas maiores). N: núcleo. Foi utilizada a coloração de *Wright*. A barra no canto inferior representa 20 milímetros. Adaptado de T. Pothirat, 2014.

O material biológico recolhido pode ser utilizado no meio de cultura *Novy-McNeal-Nicolle* (NNN) (70). A cultura do aspirado de medula óssea apresenta uma elevada sensibilidade (50-100% em co-infectados), equiparável à do aspirado esplénico, mas mais seguro durante o processo de colheita. A cultura de células do sangue periférico de co-infectados alcança uma sensibilidade de 64-67%. As culturas são semanalmente examinadas a microscópio óptico, procurando-se pela forma promastigota. Se não for detectado o parasita, realiza-se subcultura em meio fresco. As culturas são consideradas negativas se não forem observados flagelados ao fim de 4 semanas (12). A espécie *L. braziliensis* cresce pobremente no meio de cultura. O contrário acontece com *L. amazonensis* e *L. mexicana* que crescem rapidamente (2).

Os métodos imunológicos são simples mas, a sua utilização no diagnóstico é limitada (2,12), com excepção do *KAtex*, que são métodos serológicos, baseados na detecção de anticorpos específicos (68). Estes são usados para o diagnóstico de LV no entanto, os anticorpos específicos permanecem detectáveis anos após a doença ter surgido pela primeira vez, o que os torna inviáveis na detecção de recorrências ou para prognóstico (68,70). Consequentemente também não garantem que a doença activa seja Leishmaniose, sendo essencial o diagnóstico clínico diferencial ou, se este for complexo, a confirmação com uma análise parasitológica (68). Além disso, os títulos de anticorpos específicos são baixos na LC (2) e na co-infecção e, mais de 40% dos co-infectados não apresentam níveis detectáveis de anticorpos específicos contra a *Leishmania* spp. Deste modo, para aumentar a sensibilidade, devem ser utilizados pelo menos dois testes serológicos diferentes (12), dado que também ocorrer falsos positivos devido à reactividade cruzada entre *Leishmania* spp., *Trypanosoma* spp., *Mycobacterium* spp., etc.

O teste de imunofluorescência indirecta (IFAT) e o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) têm baixa sensibilidade em co-infectados (12) e requerem laboratórios devidamente equipados. O teste de aglutinação directa (DAT) é económico e foi validado em vários países endémicos mas requer algumas condições laboratoriais mínimas e profissionais qualificados (68). Na co-infecção mostrou uma elevada sensibilidade na Etiópia (89%) (12,71) e está validado a sua utilização na zona do Sudão (72). Este método apresentou também uma elevada sensibilidade no Brasil de 87,8%, equiparável ao PCR de sangue periférico (73). O DAT um teste semi-quantitativo em que se usa uma microplaca com uma quantidade fixa de antigénio em cada poço aos quais se adicionam diluições sucessivas do sangue a analisar, sendo o resultado positivo se ocorrer aglutinação ao fim de 18 horas (68). O

teste rápido imunocromatográfico, contendo o antígeno K39 recombinante (rK39), é um método fácil de realizar, não necessita de condições laboratoriais, é rápido e, com elevada especificidade (12,13). Nos co-infectados o seu uso é muito limitado pela baixa sensibilidade demonstrada (20-22% na Europa (12) e 46,6% no Brasil (73)). Por outro lado, na Etiópica foi reportada uma sensibilidade de 77% (71) e uma maior sensibilidade foi também relatada na Índia (74) o que realça a importância de se realizarem mais estudos nestas regiões endémicas.

O teste de aglutinação em latex (*KAtex*) é um método imunológico não invasivo com elevada especificidade baseado na detecção de antígenos na urina que não sendo um método serológico só detecta uma infecção activa. Em imunocompetentes apresentou uma baixa e variável sensibilidade (68) mas, esta é elevada nos co-infectados. Mostrou ser útil no prognóstico na co-infecção, detectando antígenos em períodos assintomáticos entre recorrências, indicando infecção subclínica (12).

A presença de uma resposta imunológica celular comprova-se pela reacção de Montenegro que é um teste de hipersensibilidade retardada. É utilizado, em indivíduos imunocompetentes no diagnóstico de LC (incluindo a Leishmaniose cutânea difusa) e em prognóstico reservado (2,68). Esta reacção consiste na injeção intradérmica de antígenos de *Leishmania* spp., sendo positivo o aparecimento de uma pápula eritematosa. Uma reacção negativa não exclui a presença da infecção: pode ser negativa nos casos mais recentes (menos de 6 semanas), nos quais o exame microscópico é geralmente simples ou pode permanecer negativa nos casos tratados precocemente (2).

Os métodos moleculares, como por exemplo a reacção de polimerase em cadeia (PCR) ou o PCR quantitativo em tempo real (qPCR), apresentam elevada especificidade e sensibilidade no diagnóstico e prognóstico de LC e LV, quer em imunocompetentes, quer em indivíduos co-infectados: pode ser utilizado o sangue periférico como amostra nos co-infectados, sendo um método não invasivo (12). Apresentam como desvantagem o custo e a necessidade de laboratórios devidamente equipados (68) e, qPCR sendo mais rápido, quantifica a carga parasitária (12).

2.6.2 – Leishmaniose cutânea localizada (LCL)

A Leishmaniose cutânea localizada (LCL) apresenta exclusivamente lesões cutâneas, limitadas e benignas que podem ser ulcerosas (2). É também conhecida como “botão do oriente” ou “úlceras dos chicleros”, entre outros nomes locais (2,30). No Velho Mundo, os

principais agentes são *L. tropica*, *L. major* e *L. aethiopica*, e no Novo Mundo, é o subgénero *Viannia*, *L. mexicana*, *L. amazonensis* e *L. venezuelensis* (7).

Inicia-se por uma lesão única no local de inoculação que geralmente é numa zona exposta do corpo, como na cabeça, membros ou tronco (12). Pode haver um período de incubação de semanas ou meses (30,36). A lesão consiste numa mácula, pápula ou nódulo subcutâneo eritematoso. As lesões podem apresentar também adenite satélite e/ou linfangite. A lesão pode ser única mas, múltiplas lesões também podem acontecer devido a múltiplas inoculações pelo vector ou pela disseminação do parasita (12). A partir da lesão inicial ocorre uma lenta disseminação para o tegumento vizinho, quer mediante um processo infiltrativo, quer mediante o aparecimento, meses depois, de lesões satélites (2). Podem ser encontrados parasitas na pele saudável (30).

As lesões podem ulcerar, sendo estas geralmente em profundidade (crateriformes), com bordos salientes, contornos regulares, pouco exsudativas e com um fundo granuloso (Figuras 12 e 13). São indolores e apresentam uma lenta evolução, quer para a expansão, quer para a remissão. Em lesões não-ulcerosas, quando predomina os processos de hiperplasia do epitélio, a lesão pode ser do tipo verrucoso ou papilomatoso que, se ulcerar, origina as formas ulcero-vegetantes (úlceras planas).



Figura 12 – Ulceração crónica no pé direito, por *Leishmania* spp. A úlcera é eritematosa, com bordos salientes e um fundo granuloso. Adaptado de (75).

As infeções bacterianas secundárias podem conferir às úlceras um aspecto purulento, com formação de crostas sob as quais fica um sequestro de pus.

A lesão inicial na infeção por *L. peruviana* é uma pápula pruriginosa que origina uma vesícula em 1 a 4 semana, rapidamente evolui para uma úlcera com exsudação viscosa e que sangra facilmente. A inflamação estende-se ao longo dos vasos linfáticos, com adenite satélite.

A “úlceras dos chicleros” causada por *L. mexicana* é geralmente uma lesão única, localizada numa das orelhas e adquirida nas florestas tropicais do México, Guatemala e Belize. Os vectores são normalmente os *Lu. olmeca* e *Lu. panamensis*. Nestes casos, pode haver destruição progressiva e mutilante do pavilhão auricular ou propagar-se às regiões anexas. A cura é espontânea e em poucos meses, contudo poderá demorar mais do que um ano, se a lesão for na orelha. Pode ocorrer alternância de períodos ulcerativos e períodos de remissão ou cura aparente. A população exposta é quase exclusivamente constituída por trabalhadores do sexo masculino, morando em acampamentos nas florestas, onde são picados durante o crepúsculo ou à noite. Denominados de “chicleros” fazem a extracção do “chicle”, ou látex usado nas gomas de mascar.

Muito raramente a invasão da mucosa nasal pode acontecer mas sempre por contiguidade com as lesões cutâneas (2).

Raramente, em algumas pessoas, a LC (Figura 13) pode apresentar lesões com uma morfologia atípica que podem estar em localizações normalmente não expostas à picada do vector tais como: nas palmas das mãos ou dos pés e na zona genital. Alguns doentes manifestam lesões de diferente morfologia simultaneamente: este polimorfismo clínico dificulta o correcto diagnóstico (12).

Na maioria dos casos, a cura existe. As lesões cicatrizam (Figura 13) após cerca de 3 meses (2 a 9 meses), em lesões causadas por *L. major* ou *L. mexicana* (12,35). Noutras espécies, como é o caso de *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. peruviana*, *L. panamensis* e *L. guyanensis* a cicatrização demora mais de 6 meses (6 a 15 meses) (2,12,35,36). Na infecção por *L. aethiopica* a cura é ao fim de 2-5 anos (36). Se a resposta imunitária não for adequada as lesões podem persistir por mais de um ano (12). A cura espontânea na LCL é seguida de imunidade sólida e duradora em relação à espécie que originou a infecção (2,35). Esta não sucede se a lesão for retirada cirurgicamente antes de completar a sua evolução ou for tratada precocemente. A *L. mexicana* desenvolve imunidade cruzada com *L. tropica*. Em hospedeiros imunizados as culturas são negativas ao fim de 48h.



Figura 13 – Úlceras no braço esquerdo de um indivíduo com Leishmaniose cutânea. Observa-se algumas lesões num processo de resolução, deixando uma cicatriz em uma forma de cratera. Adaptado de (76).

2.6.3 – Leishmaniose recidiva

Muito raramente, o sistema imunitário reduz o número de parasitas mas não totalmente e a inflamação torna-se crónica, semelhante ao que acontece na Leishmaniose mucocutânea. Nestes casos de formas recidivantes ou Leishmaniose recidiva, a área de infiltração (aparentemente curada) segue-se expandindo-se pouco a pouco. A reacção inflamatória tende a ser exagerada e grave, mas os parasitas são raramente encontrados (2).

2.6.4 – Leishmaniose cutânea difusa (LCD)

Os casos reportados de Leishmaniose cutânea difusa (LCD) foram associados a *L. aethiopica* e em menor extensão *L. major* no Velho Mundo e a *L. amazonensis* e *L. mexicana* no Novo Mundo (77). Caracteriza-se por nódulos, pápulas, máculas ou placas amplamente disseminadas ou infiltração difusa da pele, especialmente nos membros e na cara (Figura 14). No rosto, as lesões predominam na parte central e no pavilhão auricular. Usualmente não afecta as mucosas mas pode ocorrer infiltração discreta na mucosa nasal ou nos lábios (36). As lesões apresentam um grande número de macrófagos infectados e não ulceram. A reacção inflamatória local é muito reduzida ou ausente. Em muitos dos casos detectam-se anticorpos circulantes. A falta de uma resposta imunológica celular comprova-se pela negatividade da prova de *Montenegro*: os infectados não demonstram uma maior susceptibilidade, comparativamente a indivíduos saudáveis, a outras infecções.

O aspecto clínico pode-se confundir com a lepra lepromatosa, a sarcoidose de *Boeck* e com a Leishmaniose dérmica pós-*Kala-azar* (Figura 14). Em alguns casos foram encontrados parasitas no sangue e na medula óssea o que apresenta semelhanças com a Leishmaniose dérmica pós-*Kala-azar* (2). Esta forma clínica não se cura espontaneamente e recorrências são comuns após o tratamento (36).



Figura 14 – Apresentação clínica da Leishmaniose cutânea difusa e da Leishmaniose cutânea disseminada. (a, b) Caso clínico de Leishmaniose cutânea difusa: (a) Nódulos e pápulas avermelhadas, de vários tamanhos, estão presentes no pavilhão auricular, face e ombros; (b) Vários tipos de erupções cutâneas são observáveis nos membros inferiores. (c, d) Caso clínico de Leishmaniose cutânea disseminada: (c) Houve envolvimento superficial das mucosas do nariz e lábios, com parcial ulceração; (d) Múltiplas lesões confluentes nas extremidades inferiores, com parcial ulceração. Adaptado de Y. Hashiguchi, 2016.

2.6.5 – Leishmaniose cutânea disseminada (LCDS)

A Leishmaniose cutânea disseminada (LCDS) foi associada a *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* e *L. amazonensis* (36). Caracteriza-se por numerosas e extensas lesões acneiformes, nódulos, pápulas ou úlceras (Figura 14). Pode afectar as mucosas. Os parasitas são raros nas lesões (77).

A prova de *Montenegro* dá um resultado positivo comprovando que a resposta celular mantém-se intacta, tal como a presença de anticorpos, mas pode ser mais fraca do que na LCL (36).

2.6.6 – Leishmaniose dérmica pós-Kala-azar (LDPK)

A Leishmaniose dérmica pós-Kala-azar (LDPK) surge geralmente após o tratamento da LV causada por *L. donovani*. No Sudão ocorre em 50% dos casos de LV e pode ocorrer concomitantemente ou pouco depois da doença, esta infecção é mais grave em crianças e na maioria dos casos há cura espontânea nesta região. Na Índia só acontece em cerca de 10% dos casos de LV e ocorre mais tarde, frequentemente 2-3 anos depois. Os doentes apresentam pápulas, máculas, nódulos ou placas, geralmente na face, em redor da boca, podendo-se espalhar (12,67,68).

2.6.7 – Leishmaniose mucocutânea (LMC)

A Leishmaniose mucocutânea (LMC) é também conhecida como Leishmaniose cutâneo-mucosa, “espúndia”, “ferida brava” ou “úlceras de Bauru” e tem como agentes etiológicos a *L. braziliensis* ou muito raramente *L. panamensis* (endémicas na América do Sul) (2). Outras espécies do género *Leishmania* foram também raramente associadas a LMC (78). O período de incubação é geralmente de 2-3 meses e culmina em lesões mutilantes da face nos estados mais avançados. As manifestações clínicas nizam-se com lesões cutâneas, que tendem a ulcerar e a disseminarem-se por via sanguínea ou linfática, originando metástases cutâneas e nasais. Depois surgem nódulos na porção cartilaginosa do septo nasal que ulceram, dando origem a sintomas de rinite crónica com queixas de obstrução nasal e dor. Como sintomas gerais apresenta-se febre, anemia moderada e mal-estar. Estas lesões ulcerosas tendem a expandir-se progressivamente, com perfuração do septo nasal, o que provoca o abaixamento da ponta do nariz, e do palato (Figura 15). A inflamação local origina uma aparência telangiectásica devido à dilatação dos pequenos vasos e afecta também o lábio superior. Ocorre também periostites e destruição dos ossos circundantes. A inflamação progride para a laringe e faringe com perturbações da fonação ou afonia e comprometendo a alimentação. O aspecto e o cheiro das lesões provam um certo grau de isolamento social (2).

Esta forma clínica não se cura espontaneamente sendo difícil de tratar e, também as infecções bacterianas secundárias são bastante comuns (35).



Figura 15 – Ulceração da mucosa nasal por *Leishmania* spp. num doente do Paraguai. Observa-se ulceração crónica com erosão do septo nasal. De notar o eritema e a apresentação nodular. Adaptado de (79).

2.6.8 – Leishmaniose visceral ou Kala-azar

A Leishmaniose visceral (LV) ou Kala-azar (do hindi, *kala-azar* ou febre negra) (36) tem como principais agentes *L. donovani* e *L. infantum*. Os parasitas apresentam um acentuado tropismo pelos macrófagos do baço, fígado, medula óssea e tecidos linfáticos (2). A maioria das infecções são assintomáticas mas alguns indivíduos infectados eventualmente desenvolvem doença clínica. Malnutrição, imunossupressão e imunodeficiência facilitam o desenvolvimento da doença (36).

A *Leishmania donovani* é o principal agente etiológico no subcontinente indiano e na África Oriental, afectando preferencialmente adultos. O Homem é o principal reservatório e a infecção muitas vezes assume um carácter epidémico. Cerca de 10% dos doentes apresentam LDPK o que facilita a infecção do flebotomíneo. A LV por *L. infantum* é rara nos adultos imunocompetentes, afectando principalmente crianças (2) e imunocomprometidos (12). Apresenta uma distribuição geográfica ampla e a incidência é duas vezes maior no sexo masculino.

O período de incubação varia entre 2 a 8 meses. A lesão inicial pode-se apresentar como um pequeno nódulo no local da inoculação (preferencialmente no rosto) ou como uma pápula de cor pálida ou ligeiramente pigmentada. Esta lesão geralmente cura antes de surgirem os sintomas de LV. Nem todas as infecções originam um quadro de LV podendo haver casos assintomáticos, com cura espontânea.

A evolução da LV pode ser aguda ou crónica. A forma aguda da LV ocorre sobretudo nas crianças mais jovens, apresentando uma evolução rápida. Na forma crónica a evolução é gradual e inicialmente imperceptível (2).

Os sintomas e sinais mais frequentes são febre crónica (que pode ser irregular) (2,70), cefaleias, dor abdominal (30), esplenomegália, hepatomegália, aumento do volume dos nódulos linfáticos (linfadenopatia) (2,70), tosse seca, perturbações digestivas (30), anemia e

uma caquexia progressiva. Pode ocorrer hiperpigmentação da pele, o que deu origem ao nome Kala-azar. No curso da doença ocorre fibrose no baço e no fígado (2,70) que pode ser acompanhada por icterícia (30), hipertensão portal e ascite (2,70). Também podem ocorrer hemorragias, edema generalizado e dispneia (30). Em alguns casos pode-se desenvolver doença renal. Observa-se com frequência uma excreção aumentada de albumina e electrólitos na urina e diminuição da concentração de electrólitos no sangue (65). Os doentes apresentam uma imunodeficiência que aumenta o risco de infecções concomitantes (18,30). É recomendado os doentes com LV fazerem o teste de rastreio do HIV (18).

Nos exames laboratoriais observa-se anemia normocítica normocrómica, hipergamaglobulinémia policlonal, hipoalbuminémia, leucopénia, trombocitopénia e aumento das transaminases (2,70). Os exames à urina podem detectar proteinúria, hematúria e leucocitúria (65).

Nas formas agudas e fulminantes o excesso de antígeno pode desenvolver uma tolerância imunológica (18).

2.7 – Tratamento

Nos casos de LC com uma apresentação clínica ligeira e com boa probabilidade de cura espontânea pode-se optar só por um cuidado das lesões, importante para prevenir infecções secundárias, e seguimento do doente. O tratamento local é uma opção segura enquanto o tratamento sistémico é reservado para casos mais graves (36).

Os doentes com LDPK geralmente não procuram tratamento excepto em casos mais graves da doença e são por isso importantes reservatórios do parasita (67). Na Índia, o tratamento é à base de anfotericina B ou miltefosina (4,36). Na África Oriental, a maioria dos casos de LDPK (85%) curam-se espontaneamente no prazo de um ano, sendo o tratamento reservado só para casos mais graves (36), em que as opções são a anfotericina lipossomal ou os antimoniais pentavalentes (4,36,80).

Na LV, na Índia, o tratamento consiste numa dose única de anfotericina B lipossomal ou em tratamento combinado, enquanto na África Oriental opta-se por uma combinação de antimoniais pentavalentes com paromomicina. Na LV por *L. infantum* a primeira opção é anfotericina B ou formulações lipídicas, sendo os antimoniais pentavalentes de segunda opção (4,36).

Na gravidez, as consequências da Leishmaniose apresentam um risco superior ao dos efeitos adversos. Na LC o tratamento local deve ser a primeira opção. No tratamento

sistémico da Leishmaniose a anfotericina B ou formulações lipídicas são a opção mais segura (36).

No tratamento da LCan utiliza-se principalmente o antimoniato de meglumina ou o alopurinol, que são em alguns casos usados em combinação. A anfotericina B também pode ser utilizada mas a nefrotoxicidade limita o seu uso (69).

A comparação dos estudos e da eficácia dos tratamentos (Tabela 5) é difícil: a existência de cura espontânea faz com que seja necessário o uso de grupos controlo, as diferentes espécies e estipes apresentam diferente susceptibilidade aos medicamentos, há várias formas clínicas com diferentes respostas ao tratamento e os estudos diferem quanto à selecção e caracterização dos doentes, protocolos experimentais e definições de cura clínica (35).

2.7.1 – Antimoniais Pentavalentes

Os antimoniais pentavalentes surgiram em 1922, substituindo os trivalentes (36) devido à rápida eliminação renal do antimónio pentavalente (Sb^{5+}) que desta forma não se acumula nos tecidos e não necessita interrupções do tratamento (2). Os antimoniais pentavalentes são pró-fármacos que requerem redução biológica à forma trivalente (Sb^{3+}), a qual apresenta actividade contra a *Leishmania* spp. (81,82). Os fármacos mais usados são o antimoniato de meglumina (81mg Sb^{5+} /mL) e o estibogluconato de sódio (100mg Sb^{5+} /mL). Sendo a dose diária de 20mg de Sb^{5+} /kg de peso corporal, a administração pode ser por via intramuscular (IM) ou injeção lenta por via endovenosa (IV), devido ao risco de trombose (2,36). Se não se obteve cura ao fim do primeiro tratamento, este deve ser repetido num período mais alargado porque algumas pessoas apresentam uma resposta lenta à terapêutica o que não deve ser confundido com ausência de resposta (2). A eficácia do tratamento depende da espécie e da região geográfica (4). Na LC pode-se também administrar-se por via intralesional (36).

Os casos de Leishmaniose resistente aos antimoniais começaram a surgir nos anos 70 no Quénia e nos anos 80 em Bihar, Índia (36). Actualmente existe uma elevada resistência aos antimoniais nos países do sul asiático (12) como resultado da má utilização deste fármaco (81). Devido à resistência, na Índia, Nepal e Bangladesh optou-se pela anfotericina B lipossomal como primeira linha (18).

2.7.2 – Anfotericina B

A anfotericina B (AmB) tem uma elevada afinidade para o ergosterol, molécula presente na membrana celular de fungos e também de protozoários como a *Leishmania* spp. (81). É recomendado realizar uma dose teste de 1mg, e se tolerado, fazer a dose inteira 4-6h depois (36). Este fármaco foi abandonado nos países ocidentais e substituído pelas formulações lipídicas (12): a AmB lipossomal (L-AmB, AmBisome®), o complexo lipídico de AmB (CL-AmB) e a dispersão coloidal de AmB (DC-AmB) (83).

As formulações lipídicas de AmB apresentam um melhor perfil de segurança, com a formulação lipossomal (Ambisome®), aprovada em 1996 (36), a apresentar o melhor índice terapêutico e, tem como desvantagem o custo, mesmo com o preço reduzido nos países em desenvolvimento (12). Por ser cara e o tratamento prolongado, em 2012 um estudo apoiado pela OMS demonstrou que uma dose única era tão eficaz como múltiplas doses no subcontinente indiano. Bangladesh foi o primeiro país a seguir este novo regime (11). As formulações lipídicas apresentam maiores tempos de semi-vida, acumulando-se no baço e no fígado onde permanecem em concentrações detectáveis até 14 dias após o fim do tratamento, o que pode ter implicações para o desenvolvimento de resistências (81,84).

Um dos desafios no tratamento da Leishmaniose é assegurar que os fármacos consigam penetrar no interior dos macrófagos em concentrações elevadas para actuarem sobre os parasitas. Os lipossomas são pequenas vesículas artificiais com forma esférica, criadas a partir de colesterol e fosfolípidos, que são utilizados como sistemas de distribuição de fármacos como a AmB. Estes são facilmente internalizados pelos macrófagos no fígado e no baço e são por isso ideais no tratamento de infecções por microorganismos que parasitam os macrófagos (85).

2.7.3 – Pentamidina

O mecanismo de acção da pentamidina ainda não foi bem definido mas possivelmente inclui inibição da biossíntese de poliaminas, ligação ao DNA e alteração do potencial da membrana interna mitocondrial (81).

A utilização da pentamidina na LV foi descontinuada devido ao declínio na sua eficácia para valores inferiores a 70% e à gravidade dos efeitos secundários, com 4-12% dos doentes a desenvolverem irreversivelmente diabetes *mellitus*. Está disponível gratuitamente para o tratamento de LV após um acordo entre o fabricante e a OMS (12).

2.7.4. - Miltefosina

A miltefosina, um antineoplásico derivado dos fosfolípidos (36,81), foi aprovada em 2002 na Índia para a LV com uma probabilidade de cura de 95% aos 6 meses mas que nos últimos anos diminuiu significativamente no subcontinente indiano (83) para 85% no Bangladesh em 2007 (86) e 82,5% no Nepal em 2011 (87), decorrente da sua utilização no programa de eliminação da LV nesta região (83). Esta diminuição foi associada a um maior número de formas promastigotas metacíclicas em cultura e um maior número de macrófagos infectados *in vitro* (88). Durante o programa de eliminação da LV ocorreram alguns períodos de escassez de miltefosina na Índia em que se teve de recorrer aos antimoniais, (fármaco com menor eficácia) (13).

A miltefosina tem um período de semi-vida de cerca de 7 dias (12,83) o que a torna vulnerável ao desenvolvimento de resistências (36).

Os efeitos secundários gastrointestinais são comuns mas, em geral, são de pouca gravidade. Num estudo de Alvar J. et al., foi reportado vómitos em 38% dos doentes e diarreia em 20%, com uma duração em geral de 1 a 2 dias. É um tratamento potencialmente teratogénico (12) e as mulheres férteis devem fazer contracepção durante o tratamento e 3 meses depois (83).

A miltefosina administra-se depois das refeições, sendo as múltiplas doses repartidas ao longo do dia (36).

2.7.5. - Paromomicina

A paromomicina ou aminosidina é um antibiótico aminoglicosídeo aprovado em 2006 na Índia (36,83). Em ensaios clínicos mostrou ter uma eficácia equiparável à da anfotericina B com um bom perfil de segurança e uma actividade antibiótica de largo espectro (12). A resistência ao fármaco é facilmente adquirida, o que requer cuidado na sua utilização clínica (12,89).

A paromomicina utilizada isoladamente não é eficaz na LC por *L. panamensis* e *L. amazonensis* (90).

2.7.6 – Outros tratamentos

O alopurinol inibe enzimas da via de síntese de purinas na *Leishmania* spp. (81). No Homem tem uma vida média no sangue de 40 minutos sendo rapidamente metabolizado a oxipurinol que é muito menos activo. Os efeitos secundários são raros e incluem exantema,

febre, leucopénia e hepatite (2). Ainda é utilizado no tratamento dos cães infectados, nos quais apresenta uma farmacocinética mais favorável (81).

Os *azóis* antifúngicos impedem a síntese do ergosterol na *Leishmania* spp. O cetoconazol e o fluconazol têm sido utilizados na LC, enquanto o itraconazol apresenta baixa eficácia (4).

O tratamento das lesões cutâneas na LC também pode ser por aplicação de calor (produzido por radiofrequências) ou frio (utilizando azoto líquido). A termoterapia e a crioterapia, respectivamente, demonstram ter uma boa eficácia e são abordagens que podem ser combinadas com os outros medicamentos.

A sitamaquina, uma 8-aminoquinolona, é um fármaco oral com boa distribuição a nível hepático (81), que tem demonstrado eficácia superior a 80% na Índia e no Quénia, no regime de 2mg/kg/dia (4). Mais moléculas estão a ser investigadas, incluindo novas formulações de Anfotericina B (83).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica, Imunologia, Tratamento e Prevenção

Capítulo 2 – A Leishmaniose no Homem

Tabela 5 – Principais tratamentos utilizados na infecção por *Leishmania* spp. Eficácia dada como probabilidade de cura aos 6 meses. SbV: antimoniais pentavalentes; Amb: anfotericina B; L-Amb: anfotericina B lipossomal; Parom: paromomicina; Milt: miltefosina; Pent: pentamidina; LC: Leishmaniose cutânea; LMC: Leishmaniose mucocutânea; LDPK: Leishmaniose dérmica pós-Kala-azar; LV: Leishmaniose visceral; SCI: subcontinente indiano; IV: endovenosa; IM: intramuscular; *: cura inicial (após o tratamento). Dados de (2,4,9,12,36,67,83,87,91–97). José Oliveira, 2017.

Fármaco	Regime posológico	Eficácia	Toxicidade	Vantagens	Desvantagens
SbV	<p>LV e LMC: 20mg/kg/dia (IV ou IM) durante 28-30 dias [36,83].</p> <p>LC: 1-5 infiltrações intralesionais, 1-5ml por sessão, cada 3-7 dias; ou 20mg/kg/dia durante 20 dias (eficácia depende da espécie e região) [4,36].</p> <p>LDPK: 20mg/kg/dia (IM ou IV), 30-60 dias, na África Oriental [36].</p>	<p>LV: 80-90% [83], >90% na África Oriental [92], <50% no estado de Bihar, Índia [4,83].</p> <p>LMC: 30-91% dependendo da localização da lesão e da área geográfica [4,36].</p> <p>LC: intraleão 72-99%* no Velho Mundo [4,96], 42% no Irão [96]; ou sistémico 75-98% <i>L. major</i>, 41-53% <i>L. tropica</i>, 85% <i>L. aethiopica</i>, 77-90% Novo Mundo [4].</p> <p>Co-infetados: <66% na Europa [12], <44% Etiópia [4,94].</p>	<p>Anorexia, vômitos, náuseas, dor abdominal, mal-estar, mialgias, artralgias, cefaleias, sabor metálico, letargia, hepatotoxicidade, leucopenia, trombocitopenia, anemia, cardiotoxicidade, pancreatite [36,83].</p>	<p>Baixo custo.</p> <p>Disponibilidade no mercado [83].</p>	<p>Toxicidade. Resistência no subcontinente indiano [83].</p>
Amb	<p>LV: 0,75-1,0mg/kg/dia, 15-20 perfusões (em 5% dextrose), diárias ou a cada 48h, dose total 15mg/kg, no SCI e África Oriental [36,83,91]; ou 20-30 perfusões, dose total 2-3g, se por <i>L. infantum</i> [36].</p> <p>LC: 0,7mg/kg/dia, 25-30 perfusões, na LC por <i>L. braziliensis</i> e recorrências de LC do Novo Mundo.</p> <p>LMC: 0,7-1,0mg/kg/dia, 25-45 perfusões [36].</p> <p>LDPK: 1mg/kg/dia, 60-80 doses durante 4 meses, no SCI [36,83].</p> <p>Co-infetados: 0,5-1,0 mg/kg/dia, dose total de 1,5-2,0g [9].</p>	<p>LV: >95% na Índia [83].</p> <p>LMC: 80-90%* [36].</p> <p>Co-infetados: 77% na Europa [95].</p>	<p>Reações à perfusão (febre, calafrios, rigidez), tromboflebite, nefrototoxicidade, mielotoxicidade, hipocalcemia, miocardite, cefaleias, náuseas [2,36,83].</p>	<p>Eficácia. Não há casos relatados de resistência [83].</p>	<p>Elevado custo. Toxicidade [83].</p>
L-Amb	<p>LV: Dose única 10mg/kg (perfusão IV), no SCI; ou 3-5mg/kg/dia, dose total de 15mg/kg, no SCI; ou dose total de 18-21mg/kg, na LV por <i>L. infantum</i>; ou dose total de 30mg/kg, na África Oriental [36,83].</p> <p>LC: 2-3mg/kg/dia, dose total de 20-40mg/kg, na LC por <i>L. braziliensis</i> e recorrências de LC do Novo Mundo.</p> <p>LMC: 2-3mg/kg/dia, dose total de 40-60mg/kg [36].</p> <p>Co-infetados: 4mg/kg nos dias 1-5, 10, 17, 24, 31, 38 até dose total de 40mg/kg [9,83]; ou 2-4mg/kg/dia (dose total de 20-60mg/kg) [9].</p> <p>LDPK: 2,5mg/kg/dia, 20 dias, na África Oriental [36]; ou 5mg/kg/semana durante 3 semanas no SCI [67].</p>	<p>LV: >95%; 92%* no Sudão [83].</p> <p>LC: 84%* <i>L. tropica</i>; 85-100% Novo Mundo [4].</p> <p>LMC: 80-90%* [4,36].</p> <p>Co-infetados: 72-73%* [95].</p>	<p>Ligeiras reações à perfusão (febre, calafrios, rigidez), dor nas costas, nefrototoxicidade transitória, trombocitopenia [36].</p>	<p>Eficácia. Não há casos relatados de resistência. Baixa toxicidade [83].</p>	<p>Elevado custo [83].</p>
Parom	<p>LV: 15mg/kg (11mg/kg base/IM)/dia durante 21 dias, no SCI [36,83] ou 20mg/kg 21 dias (África Oriental) [92].</p> <p>LC: 20mg/kg, 20 dias (sistémico), no Brasil. Tópico em combinação [4].</p>	<p>LV: >95% na Índia [83]; 84% (20mg/kg) [92] na África Oriental.</p> <p>LC (sistémico): <60%*, no Novo Mundo [36]; >90% no Brasil [4].</p>	<p>Dor ligeira no local de administração (55%), nefrototoxicidade, ototoxicidade reversível (2%), hepatotoxicidade, tetania [4,36,83].</p>	<p>Eficaz, bem tolerado e baixo preço [83].</p>	<p>Sem estudos na LV por <i>L. infantum</i>. Fácil desenvolvimento de resistências [83].</p>
Milt	<p>LV: 2,5mg/kg (<12 anos) ou 50mg/dia (>12 anos e <25kg) ou 100mg/dia (25-50kg) ou 150mg/dia (>50kg) <i>per os</i>, durante 28 dias, no SCI e África Oriental [36,83,91].</p> <p>LC: 2,5mg/kg, 28 dias, LC por <i>L. mexicana</i>, <i>L. guyanensis</i> ou <i>L. panamensis</i>.</p> <p>LMC: 2,5-3,3mg/kg, 28 dias, na Bolívia.</p> <p>LDPK: 3 meses, no SCI [36]; ou 28 dias na África Oriental (co-infetados) [67].</p>	<p>LV: 82-85% no SCI [83,87]; 76% na Etiópia [83].</p> <p>LC: 70-90%*, na LC por <i>L. panamensis</i> [36] e <i>L. braziliensis</i> [4]; <60% <i>L. mexicana</i> [36]; 81% <i>L. major</i>; 71% <i>L. guyanensis</i> [4].</p> <p>LMC: 58-83%, dependendo da gravidade [36].</p> <p>Co-infetados: 78% na Etiópia [95].</p>	<p>Anorexia, náuseas, vômitos, diarreia, potencialmente teratogénico, alergia cutânea, hepatotoxicidade, nefrototoxicidade [36,83].</p>	<p>Oral [83].</p>	<p>Diminuição da eficácia. Custo. Toxicidade. Teratogénico [83].</p>
Pent	<p>LV e LMC: 4mg/kg/dia (perfusão IV ou IM), 3x/semana, a cada 48h, 15-20 doses [4,83].</p> <p>LC: 3 doses (1 semana) na LC por <i>L. guyanensis</i>, <i>L. panamensis</i> [36] ou <i>L. braziliensis</i> [4].</p>	<p>LV: 69-78%, na Índia.</p> <p>LC: 71% <i>L. braziliensis</i> [4], 58-90% <i>L. guyanensis</i> [4,97].</p> <p>LMC: >90% <i>L. braziliensis</i>.</p>	<p>Reações no local de administração, cardiotoxicidade, pancreatite, diabetes, hiperglicémia transitória, náusea, vômitos, cefaleias, mialgias, hipotensão, hipoglicémia grave, nefrototoxicidade [83,4,36].</p>	<p>Gratuita no tratamento de LV [36].</p>	<p>Baixa eficácia. Toxicidade [83].</p>
Crioterapia	<p>LC: Azoto líquido (-195°C), 1-5 sessões, cada 3-7 dias, na LC Velho Mundo [36].</p>	<p>>95%*, no Egipto, Israel e Jordânia; 77% na Turquia [36]; >90% <i>L. aethiopica</i> e <i>L. donovani</i> [4].</p>		<p>Segurança [4].</p>	<p>Caro (aparelho e azoto líquido). Requer formação [36].</p>
Termoterapia	<p>LC: 1-2 sessões com calor localizado (50°C, durante 30s), na LC Velho Mundo; ou 1-3 sessões, na LC Novo Mundo [36].</p>	<p>>70% cura inicial [4,36].</p>	<p>Queimaduras de segundo grau [36].</p>	<p>Portátil [36].</p>	<p>Caro (aparelho). Requer anestesia local [36].</p>
Fluconazol	<p>LC: 200mg/dia, 6 semanas, na LC por <i>L. major</i> [36] ou 8mg/kg/dia na LC por <i>L. braziliensis</i> [4].</p>	<p>44-59% <i>L. major</i>, >80% a 400mg/dia [4].</p>	<p>Sintomas gastrointestinais, hepatotoxicidade [4].</p>	<p>Custo [4].</p>	<p>Baixa eficácia. Toxicidade [4].</p>
Cetoconazol	<p>LC: 600mg/dia (adultos), 28 dias, na LC por <i>L. mexicana</i> ou <i>L. panamensis</i> [36]; 4-6 semanas no Irão e Kuwait [4].</p>	<p>76-90%* na LC por <i>L. mexicana</i> ou <i>L. panamensis</i> [36]; >80% no Irão e Kuwait [4].</p>	<p>Sintomas gastrointestinais, hepatotoxicidade [4].</p>	<p>Custo [4].</p>	<p>Baixa eficácia. Toxicidade [4].</p>

2.7.7. - Combinações

É consensual a necessidade de rever a actual terapêutica e implementar combinações de fármacos (Tabela 6) de forma a minimizar o surgimento de resistências (12). A combinação de fármacos tem ainda como vantagens o efeito sinérgico ou aditivo destes, a menor duração do tratamento (que promove a adesão) e a menor dose dos fármacos (com menor probabilidade de efeitos secundários e menor custo) (36,83).

Tabela 6 – Combinações de fármacos estudadas. Eficácia aos 6 meses, excepto quando indicado. SbV: antimoniais pentavalentes; AmB: anfotericina B; L-AmB: anfotericina B lipossomal; Parom: paromomicina; Milt: miltefosina; Pent: pentamidina; LC: Leishmaniose cutânea; LCD: Leishmaniose cutânea difusa; LDPK: Leishmaniose dérmica pós-Kala-azar; LV: Leishmaniose visceral; SCI: subcontinente indiano; IV: endovenoso; IM: intramuscular; MBCL: cloreto de metilbenzetónio; LMA: *L. major* autoclavado precipitado em alumínio, com bacillus Calmette-Guérin (BCG). Dados de (4,36,67,83,90,92,93,98–101). José Oliveira, 2017.

Combinação	Regime posológico	Eficácia
L-AmB + Milt	LV: L-AmB 5mg/kg, dose única + Milt 7-10 dias (após 24h), no SCI [36;93;99]. Co-infectados: L-AmB 30mg/Kg dividida em 6 doses, dias alternados + Milt 14 dias, concomitantemente [83;98].	LV: 98%, Índia [93;99]. Co-infectados: 86%, Índia [98].
L-AmB + Parom	LV: L-AmB 5mg/kg dose única + Parom 10 dias 11mg/kg (base), Índia [93].	98%, Índia [93].
Milt + Parom	LV: Milt 10 dias + Parom 10 dias 11mg/kg (base), no SCI [36;93].	99%, Índia [93].
Parom + SbV	LV e LDPK: Parom 17 dias 11mg/kg (base) + SbV 17 dias 20mg/kg, na África Oriental [36;92]. LCD: 60 dias na LCD por <i>L. aethiopica</i> [36].	LV: 91%, África Oriental [92].
Parom + MBCL	LC: 15% Parom + 12% MBCL, tópico, 2x/dia, 20 dias [36].	70% cura inicial, no Irão, Israel e Sudão [36]; 86% aos 12 meses, na Guatemala [100].
Parom + Gentamicina	LC: 15% Parom + 0,5% Gentamicina (WR 279396), tópico, 1x/dia, 20 dias [90].	81% <i>L. major</i> [90]; 87% <i>L. panamensis</i> [100].
SbV (local) + Crioterapia	LC: SbV 1-5 infiltrações intralesionais, 1-5mL por sessão (e Crioterapia), cada 3-7 dias, na LC do Velho Mundo [36].	>90% no Irão [101].
SbV + Pentoxifilina	LC: SbV 20mg/kg/dia + Pentoxifilina 400mg, 3x/dia, 10-20 dias, <i>L. major</i> ; ou 30 dias na LMC [36].	
SbV + Alopurinol	LC: SbV 15-20mg/kg/dia, 15 dias + Alopurinol 20mg/kg, 30 dias, <i>L. tropica</i> [36] ou <i>L. major</i> [4].	>46% cura inicial <i>L. tropica</i> , >80% <i>L. major</i> [4].
SbV + Imiquimod	LC: SbV 20mg/kg/dia + Imiquimod, tópico, dias alternados, 20 dias, recorrência de LC do Novo Mundo [36].	
SbV + Imunoterapia	LDPK: SbV 20mg/kg/dia, 40dias + LMA 1x/semana, 4 doses, no Sudão [36].	87% aos 60 dias (53% só com SbV) [67].

2.8 - Prevenção

A prevenção da Leishmaniose assenta sobretudo na diminuição da exposição ao vector, na redução do número de vectores e/ou no número de hospedeiros vertebrados com infecção activa.

Para a diminuição da exposição ao vector e redução do número de flebotomíneos contribui medidas de ordenamento do território como construções a grande distância da orla florestal e o desmatamento próximo dos povoados, o uso de insecticidas, o uso de redes

mosquiteiras impregnadas em insecticida nas casas e nas camas, e o uso de repelentes de insectos (2,9,36).

É também importante o controlo da doença nos vertebrados que servem de reservatório, nomeadamente nos cães no caso de um ciclo zoonótico. Assim deve-se diagnosticar precocemente e tratar os cães infectados (2). Uma campanha de saúde pública na China entre os anos 50 e os anos 80 que incluía entre as suas medidas o abate de cães infectados teve muito sucesso (36) contudo esta medida apresentou resultados contraditórios noutros programas. Não é muito eficaz, além de não ético, por muitos dos animais permanecerem assintomáticos, existirem outros reservatórios e pelos programas não conseguirem ter uma grande cobertura (6,69). Podem ser utilizadas coleiras para cães impregnadas com deltametrina (6,69) que apresenta uma actividade insecticida que se mantém durante pelo menos 6 meses. Formulações tópicas à base de permetrina também são eficazes mas a duração do efeito é inferior, protegendo durante cerca de 21 dias, sendo por isso necessário reaplicações (69).

Há evidências, segundo Aebischer T. et al., que sugerem que a vacinação para LV em humanos seja possível (102) mas, as dificuldades na padronização de vacinas de *Leishmania* spp. e a falta de um adequado adjuvante faz com que tal não seja possível a curto e a médio período de tempo (11,103).

Para a LCan existem vacinas disponíveis: a Leishmune® consiste num adjuvante mais uma mistura glicoproteica denominada “ligante de fucose e manose” (FML, do inglês *fucose mannose ligand*) que foi isolada de *L. donovani*. Esta mistura contém antígenos presentes na superfície do parasita ao longo de todo o seu ciclo de vida e os anticorpos criados contra estes antígenos permitem não só a eliminação do parasita no cão mas também a interrupção da transmissão ao impedirem a ligação do parasita ao intestino do vector, evitando a sobrevivência neste. Nos ensaios clínicos demonstrou uma elevada eficácia e a indução de uma imunidade duradoura. É também usada como profilaxia mas, nalguns estudos sugerem que poderá ser também eficaz como uma vacina terapêutica. A vacina Leish-Tec® consiste num adenovírus expressando o antígeno A2 de *L. donovani* (103).

Capítulo 3 – A infecção pelo HIV

3.1 – Epidemiologia

Segundo dados da UNAIDS, em 2016 ocorreram 1,8 milhões de novos casos estimados de infecção pelo vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV) que se somam a um total de 36,7 milhões de pessoas a viver com a infecção. Destes 36,7 milhões, só 19,5 milhões faziam a terapêutica anti-retrovírica combinada (TARc) o que representa uma cobertura terapêutica de 53% que tem vindo a aumentar nestes últimos anos. A região mais afectada é a sul e oriental do continente Africano com 19,4 milhões a viver com a infecção em 2016 (mais de metade dos dados globais), dos quais 11,7 milhões fazem tratamento (60% de cobertura terapêutica). O número de novas infecções diminuiu 16% entre 2010 e 2016, em crianças diminuiu 47% e a cobertura terapêutica em grávidas aumentou para 76%. No sexo feminino, na faixa etária de 15-24 anos, o número de novas infecções é 44% superior ao do sexo masculino. Na região sul e oriental do continente africano o número de novas infecções diminuiu 29%, contudo aumentou 60% na europa de leste e ásia central em 2010 a 2016 (10). A prevalência da infecção é, em muitos países, maior nos meios urbanos devido ao anonimato e maior número de interações sociais que proporcionam (104).

Foi estimado 1,0 milhão de mortes relacionadas com a SIDA em 2016 o que representam uma diminuição de 32% entre 2010 e 2016. O número de mortes foi 27% inferior no sexo feminino em 2016. Na região sul e oriental do continente africano houve uma diminuição de 62% no número de mortes, entre 2004 e 2016, com 420000 em 2016. Há contudo um aumento de 48% na região norte do continente africano e 38% na europa de leste e ásia central, no mesmo período.

Os grupos populacionais em maior risco de adquirir a infecção são os trabalhadores do sexo, utilizadores de drogas injectáveis (UDI), prisioneiros e homens que têm sexo com homens (HSH). Excluindo a região da África subsariana, 80% nas novas infecções em 2015 ocorreram nestes grupos populacionais. Mesma nessa região representou 25% e no globo a prevalência da infecção é maior nestes grupos (10).

A Etiópia, Sudão do Sul, Uganda e Quênia apresentam uma elevada prevalência de infecção pelo HIV (105) e sendo países endémicos para a LV há um risco acrescido de ocorrência de co-infecções (Tabela 7).

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Capítulo 3 – A infecção pelo HIV

Tabela 7 – Dados epidemiológicos da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em países endémicos para Leishmaniose visceral (LV) em 2016. TARc: terapêutica anti-retrovírica combinada; N/A: dados não disponíveis. Dados de (105). José Oliveira, 2017.

País	Nº infectados	Prevalência (%)	Com TARc (%)	Nº mortes	Novas infecções
Índia	2,100,000	0,3	49	62,000	80,000
Nepal	32,000	0,2	40	1,700	<1000
Bangladesh	12,000	<0,1	16	1,000	1,500
Brasil	830,000	0,6	60	14,000	48,000
Etiópia	710,000	1,1	59	20,000	30,000
Sudão	56,000	0,2	10	3,000	5,000
Sudão do Sul	200,000	2,7	10	13,000	16,000
Somália	24,000	0,4	11	1,700	1,800
Quênia	1,600,000	5,4	64	36,000	62,000
Uganda	1,400,000	6,5	67	28,000	52,000
Espanha	140,000	0,4	77	N/A	3,900

O estigma social perante a infecção pelo HIV e a discriminação e atitudes punitivas sobre os grupos de maior risco são barreiras para a prevenção, diagnóstico e acesso ao tratamento (10,106). Em 2016, 72 países possuíam leis que permitiam especificamente a criminalização de indivíduos infectados com HIV. À discriminação com base na infecção soma-se a discriminação associada às subpopulações de risco (104). A discriminação com base na orientação sexual dos HSH é reforçada pelo panorama político e legal existente nos países das regiões mais afectadas pelo HIV. Nesses países há falta de leis que combatam a discriminação no trabalho e em outras áreas, há criminalização com pena de prisão ou mesmo pena de morte, preconceitos enraizados na sociedade, entre outras questões do âmbito legal e social (107,108). Atitudes punitivas em relação aos UDI limitam a implementação de programas de substituição de opiáceos e de programas de troca de seringas, que são medidas eficazes na prevenção da transmissão (106).

3.2 - Agente patogénico

O HIV pertence à família *Retroviridae* e ao género *Lentivirus* e, até ao momento estão descritos dois tipos: HIV-1 e HIV-2. O HIV é um retrovírus porque possui uma enzima designada transcriptase reversa (TR) que usa o ácido ribonucleico (em inglês, RNA) viral como molde para criar uma cópia em DNA e é um lentivírus devido ao surgimento tardio dos sinais clínicos.

A partícula viral apresenta um diâmetro de 100-150nm, com um invólucro externo lipídico com 72 picos glicoproteicos constituídos por 2 subunidades: a gp120 na porção externa e a gp41 transmembranar que faz a ligação da gp120 ao invólucro, no caso do HIV-1. No centro contem 2 moléculas de RNA e várias cópias das enzimas virais: TR, integrase e protease (Figura 16).

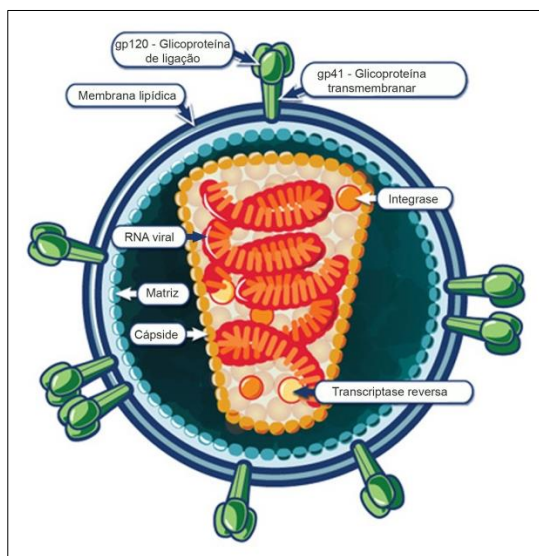


Figura 16 – Esquema representativo da morfologia do vírus da imunodeficiência humana (HIV). RNA: ácido ribonucleico; gp: glicoproteína. Adaptado de (109).

No seu genoma apresenta genes que codificam proteínas capazes de estimular a replicação viral: proteína reguladora viral (em inglês, Rev), proteína transactivadora da transcrição (em inglês, Tat), factor de infectividade viral (em inglês, Vif), e factor negativo (em inglês, Nef) (110).

O HIV pode ser do tipo 1 (HIV-1) ou do tipo 2 (HIV-2), como foi atrás referido. Estes dividem-se em grupos que subdividem-se em vários subtipos: no caso do HIV-1, o grupo M é o principal responsável pela pandemia sendo o subtipo C predominante na Índia e em África (representando cerca de 50% dos casos globais), enquanto que o subtipo B predomina na América, Austrália e Europa Ocidental. O HIV-2 é mais comum na África Ocidental, apresentando uma evolução clínica mais lenta e uma menor probabilidade de transmissão (106).

3.3 – Transmissão

O risco de transmissão é maior nos primeiros meses após a infecção devido ao desenvolvimento de uma elevada carga viral plasmática (106).

A transmissão do HIV pode acontecer através de relações sexuais, partilha de material injectável, transfusão de produtos sanguíneos contaminados, em procedimentos cirúrgicos ou dentários e outras formas de contacto com sangue contaminado. A infecção de recém-nascidos pode ocorrer durante a gravidez (infecção transplacentária), durante o parto ou durante a lactação, mas a taxa de transmissão desta via está cada vez mais reduzida (110).

Factores de risco associados à transmissão sexual incluem a existência de doenças sexualmente transmissíveis, tentativas de gravidez, sexo anal receptivo e existência de

múltiplos parceiros sexuais. O uso de drogas, injectáveis ou não, incluindo o consumo de álcool, está associado a um maior comportamento de risco por via sexual. O uso de drogas injectáveis pode permitir a transmissão o HIV pela partilha de agulhas. A circuncisão dos homens está associada a um menor risco de transmissão.

Nos HSH contribui para a ocorrência de transmissão do HIV o aumento de comportamentos de risco após a início da TARc (fenómeno designado de optimismo terapêutico), o elevado risco de transmissão por sexo anal receptivo, a existência de múltiplos parceiros sexuais e o estigma social (106).

3.4 – Ciclo de vida

O ciclo de replicação demora 24h (Figura 17).

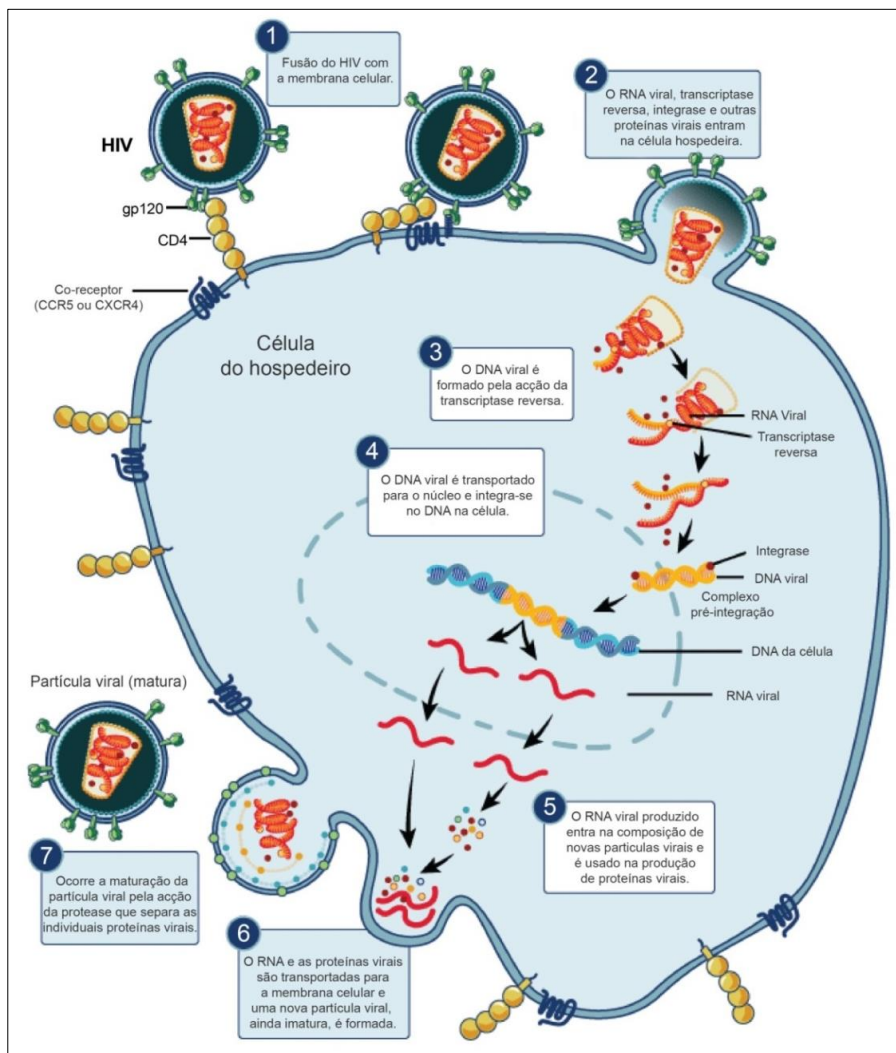


Figura 17 – Ciclo de replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) numa célula humana. A partícula viral liga-se a receptores na membrana celular e liberta o seu conteúdo no interior da célula. O ácido ribonucleico (em inglês, RNA) viral é convertido em ácido desoxirribonucleico (em inglês, DNA) viral que é combinado com o DNA da célula, levando à produção de novas moléculas de RNA viral que são usadas na produção de proteínas virais e na composição de novas partículas virais que se libertam da célula por gemulação, sofrendo posteriormente um processo de maturação. HIV: vírus da imunodeficiência humana; RNA: ácido ribonucleico; DNA: ácido desoxirribonucleico. Adaptado de (111).

Muito resumidamente, a entrada do vírus na célula ocorre maioritariamente pela interacção da gp120 com o receptor CD4 e um co-receptor, um receptor de quimiocinas como o CCR5 (em estirpes de HIV-1 com tropismo para macrófagos) ou o CXCR4 (em estirpes de HIV-1 com tropismo para linfócitos). A interacção com o co-receptor provoca uma alteração na conformação da gp41, permitindo a fusão do invólucro com a membrana da célula. No citoplasma a TR procede à síntese de uma molécula de DNA complementar. A ribonuclease viral elimina o RNA viral original. A TR sintetiza então a segunda cadeia de DNA. O DNA de dupla cadeia associa-se a proteínas virais (complexo M, proteína viral R (Vpr), integrase) formando o complexo pré-integração que se desloca através dos microtúbulos e com o auxílio da dineína, até ao póro nuclear. Já dentro do núcleo, o pró-vírus é integrado no genoma e a transcrição deste DNA integrado ou provírus pode ser depois activada (110). O genoma viral é preferencialmente inserido em genes com uma grande actividade de transcrição (58).

Quer factors virais quer celulares são necessários para activar a transcrição viral. Após a transcrição, a primeira molécula de RNA transcrita é fragmentada para dar origem a diferentes moléculas de RNA. Estas primeiras moléculas de RNA sintetizadas codificam as proteínas Tat, Rev e Nef. A proteína Tat aumenta a transcrição viral ao recrutar factores celulares e promove uma eficiente transcrição (permite transcrever todo o genoma viral). A proteína Rev ajuda a exportar o RNA viral do núcleo para os ribossomas citoplasmáticos. A Tat permite a transcrição dos genes *gag*, *pol* e *env*, permitindo a produção dos componentes necessários à criação de novas partículas virais. As partículas virais germinam da membrana como partículas imaturas que subsequentemente, pela acção da protease, sofrem clivagem proteolítica (maturação) (110).

3.5 – Patogénese

A infecção aguda caracteriza-se por um rápido aumento da replicação viral e uma forte indução da produção de citocinas inflamatórias. A resposta imunitária diminui a carga viral até um valor estável ou mesmo indetectável pelos métodos actuais de diagnóstico. Os linfócitos CD8⁺ e as células NK destroem as células infectadas o que progressivamente leva à depleção de linfócitos T. A resposta imunitária selecciona a emergência de mutações que permitem a evasão ao sistema imunitário e a persistência da infecção mas, os anticorpos produzidos não são protectores devido à alta taxa de mutação do vírus.

O HIV persiste nos indivíduos infectados, podendo permanecer nos linfócitos T CD4⁺ de memória (que apresentam um longo tempo de vida) e em reservatórios anatómicos como o

tracto gastrointestinal, tecidos linfáticos e o sistema nervoso central, com alguma replicação residual (106). O início precoce da TARc poderá reduzir significativamente a presença de reservatórios e de células de memória infectadas mas com ausência de produção de novas partículas virais (infecção latente). A infecção latente estabelece-se devido à integração do genoma viral no DNA da célula e ao envolvimento de múltiplos mecanismos que limitam a transcrição do DNA viral. Quando os linfócitos são activados, inicia-se a transcrição e a replicação viral. A maior depleção de linfócitos CD4⁺ ocorre a nível do tracto gastrointestinal, com mínima recuperação após início da TARc.

O HIV, por acção directa, promove a activação do sistema imunitário e a produção de citocinas inflamatórias, originando uma inflamação residual que está associada a uma maior mortalidade e a desenvolvimento de doenças cardiovasculares, hepáticas, neurológicas e cancro. A baixa, mas existente replicação viral, nos indivíduos infectados em TARc, contribui para a inflamação persistente.

Também pode ocorrer infecção sem a intervenção do receptor CD4⁺ (acontece com algumas estirpes virais que fazem o passo de entrada na célula hospedeira, sem a ligação inicial da gp120 à molécula CD4), como acontece nos astrócitos e células epiteliais renais, o que causa perturbações neurocognitivas e lesões no rim (106).

As células dendríticas são das primeiras células a terem contacto com o HIV. Estas têm como função a apresentação de antígenos aos linfócitos, migrando dos tecidos para o nódulo linfático mais próximo. O HIV consegue infectar estas células através dos receptores usuais ou outros receptores como o DC-SIGN (em inglês, *Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3 (ICAM-3)-grabbing non-integrin*). Também é capaz de se fixar ao receptor DC-SIGN e no nódulo linfático ser transferido para as células alvo (112,113).

Um outro tipo de células, as células dendríticas foliculares, presentes nos nódulos linfáticos e outros tecidos linfáticos, conseguem fixar na sua superfície um grande número de partículas virais infecciosas (113) ou outros antígenos que estejam ligados a anticorpos ou moléculas do complemento. Os linfócitos B imaturos que consigam reconhecer estes antígenos com elevada afinidade continuam o seu processo de maturação, os outros sofrem apoptose. O passo seguinte envolve interacção com os linfócitos T_H (61). As células dendríticas foliculares conseguem promover a migração de linfócitos T_H para o nódulo linfático e todo este processo permite a permanência do vírus no nódulo linfático e a infecção das suas células alvo (113).

3.6 – Clínica

A evolução da infecção divide-se em 3 fases. A infecção aguda primária ocorre nas duas primeiras semanas e até cerca de 3 semanas podem ocorrer alguns sintomas semelhantes aos da gripe: febre, cefaleias, mau estar, perda de peso e faringite. A elevada carga viral permite a difusão do vírus pelo corpo.

A resposta imunitária resulta então na diminuição da carga viral e estabilização num valor: não obstante, continuam a ser produzidas 10^9 partículas por dia. Há uma infecção crónica assintomática, com uma lenta diminuição de linfócitos CD4+. A carga viral aos 6 meses correlaciona-se com a progressão da infecção.

Ao fim de cerca de 2-4 anos, em cerca de 60% dos casos, há uma perda acelerada de células CD4+ e o aparecimento de sintomas como febre, perda de peso, linfadenopatias persistentes, suores nocturnos e diarreia.

A infecção evolui então para a fase de SIDA e o indivíduo infectado fica mais susceptível a infecções oportunistas: candidíase (Figura 18), varicela, zona, sarcoma de Kaposi, pneumonia por *Pneumocystis jiroveci pneumoniae*, antigamente designado por *Pneumocystis carinii*, e tuberculose são as mais comuns.

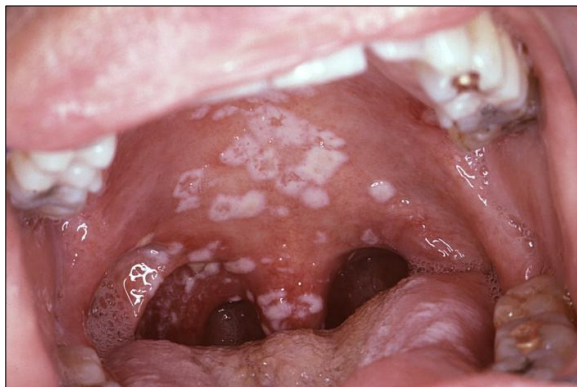


Figura 18 – Infecção secundária de candidíase oral pseudomembranosa num indivíduo infectado com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Adaptado de (114).

A infecção desenvolve-se mais rapidamente nos recém-nascidos e cerca de 20% dos infantes infectados desenvolvem SIDA no primeiro ano de vida, sendo a mortalidade elevada (110).

Após início da TARc, a carga viral plasmática diminui para concentrações indetectáveis, na maioria dos indivíduos infectados, no prazo de 3 meses. A recuperação dos linfócitos T CD4+ após início do tratamento é variável.

Cerca de 50% dos óbitos nos indivíduos infectados pelo HIV em países desenvolvidos não são devidos a SIDA. Segundo um estudo, nas possíveis causas de óbitos não relacionadas

com SIDA incluem-se neoplasias (23,5%), doenças cardiovasculares (15,7%) e doenças hepáticas (14,1%). Os indivíduos infectados pelo HIV apresentam um risco 50% superior de enfarte do miocárdio. A doença hepática é comum principalmente devido a co-infecção com o vírus da hepatite B e/ou com o vírus da hepatite C. A mortalidade após início do tratamento é maior em países em desenvolvimento, devido aos limitados recursos disponíveis. Os indivíduos infectados em tratamento, ao alcançarem uma carga viral indetectável e níveis de linfócitos T CD4+ normais, apresentam uma esperança de vida próxima do normal (excepto os UDI).

A doença de reconstituição imunitária ou síndrome inflamatório de reconstituição imunitária é uma resposta imunopatológica que pode ocorrer após início da TARc, resultante da rápida restauração da resposta imunitária a antígenos pré-existentes conjuntamente com uma desregulação do sistema imunitário. É comum, com uma incidência de 16,1%, principalmente quando o indivíduo infectado inicia com contagens muito baixas de linfócitos CD4+.

O risco de transmissão vertical é maior durante a gravidez e amamentação (cerca de 40%), sendo cerca de 25% durante o parto, na ausência de intervenções. A TARc deve ser iniciada depois do primeiro trimestre, dependendo do estado clínico do indivíduo infectado. Deve-se evitar a amamentação, recorrendo-se em alternativa às fórmulas artificiais de leite, nos países desenvolvidos. Nos países em desenvolvimento, devido ao maior risco de mortalidade infantil com o uso de alimentação artificial, deve-se prolongar a TARc na progenitora, pelo menos até terminar a lactação (106).

3.7 - Tratamento e profilaxia

Os regimes de TARc recomendados actualmente são menos tóxicos, mais eficazes e mais cómodos, com um menor número de comprimidos por dia e uma menor frequência de administração. Estes regimes terapêuticos consistem em dois análogos de nucleótidos inibidores da transcriptase reversa (emtricitabina ou lamivudina com abacavir, tenofovir ou zidovudina) mais um não análogo de nucleótidos inibidor da transcriptase reversa, um inibidor da protease ou um inibidor da integrase.

A má adesão à terapêutica é a principal razão associada ao desenvolvimento de resistências aos fármacos usados na infecção pelo HIV. Estes indivíduos infectados podem posteriormente transmitir o vírus com resistências a fármacos.

A TARc, em indivíduos infectados com carga viral indetectável, está associada a uma redução de 96% da transmissão, mas requer medidas complementares de prevenção. A profilaxia pré-exposição apresenta uma eficácia de 44-75% que depende da adesão do indivíduo infectado. A circuncisão dos homens é uma medida custo-efectiva adoptada nos países em desenvolvimento, reduzindo em 46% o risco de transmissão em casais heterossexuais serodiscordantes. Um estudo demonstrou que o uso de preservativo em casais serodiscordantes reduziu o risco de transmissão em 78% e ainda não existem vacinas (106).

Capítulo 4 – A co-infecção HIV-*Leishmania*

4.1 - Epidemiologia

Até 2013, casos de co-infecção foram reportados em 35 países endémicos para LV (11). O norte da Etiópia tem apresentado uma tendência crescente no número de casos. Em 2006, 31-34% dos indivíduos com LV nessa região estavam também infectados com o HIV (11,115). O Brasil também aumentou de 0,7% em 2001 para cerca de 8,5% em 2012 de indivíduos com LV e infecção pelo HIV (116). No estado de Bihar, na Índia, 5,6% dos indivíduos com LV são co-infectados (117,118). Em 2003 a percentagem de indivíduos com LV que são co-infectados era de 5,7% no Nepal e 3,6% no Sudão (12).

Nos países do sul da Europa (França, Itália, Espanha e Portugal) e não só, mais de 80% dos indivíduos co-infectados são do sexo masculino com uma idade média de 39 anos. Observa-se após a introdução da TARc uma diminuição no número de casos de co-infecção nesta região. No período de 2001-2006, 67% dos casos eram em UDI, 23% em heterossexuais e 10% em homens que têm relações sexuais com outros homens (12). Em Portugal e na Espanha, nesse período, cerca de um terço dos casos de co-infecção eram reactivações.

A Espanha apresenta mais casos nesta região por ter uma maior sobreposição das duas infecções (podendo ocorrer uma reactivação da infecção assintomática por *Leishmania* spp. com a aquisição do HIV) e por ter apresentado naquele período um grande número de UDI. A partilha de seringas contaminadas representa um risco de aquisição das duas infecções (Figura 19)(12).

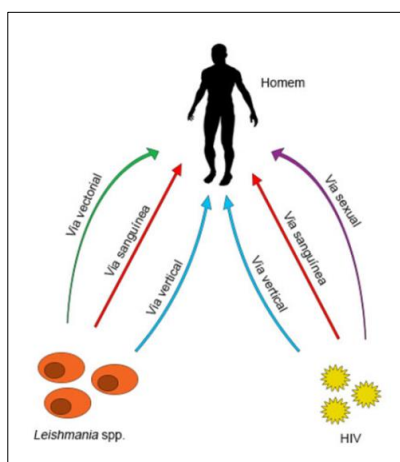


Figura 19 – Vias de transmissão da *Leishmania* spp. e do vírus da imunodeficiência humana (HIV). A transmissão da *Leishmania* spp. ocorre principalmente através do vector, e no caso do vírus da imunodeficiência humana (HIV), pela via sexual. Ambos podem ser transmitidos por via sanguínea, como por exemplo a partilha de agulhas contaminadas. HIV: vírus da imunodeficiência humana. José Oliveira, 2017.

Leishmania spp. foi detectado por PCR em seringas descartadas e a quantidade de sangue transmitida na partilha do material injectável (cerca de 0,3mL) é suficiente para ocorrer a infecção (31,119). UDI assintomáticos podem servir de reservatórios para *L. infantum*, criando um ciclo antroponótico artificial em que as seringas substituem o vector (120).

Enquanto o HIV é mais prevalente nas zonas urbanas, a Leishmaniose tem uma distribuição mais rural (onde o vector e os reservatórios existem em maior número). Assim o risco de co-infecção é maior na interface, nas regiões suburbanas (121). A migração económica do meio rural para a cidade e vice-versa favorece a transmissão (12).

4.2 - Patogénese

Os macrófagos e as células dendríticas podem ser concomitantemente infectadas pelo HIV e pelo parasita (12) (Figura 20). O parasita ao se ligar ao receptor DC-SIGN consegue infectar as células dendríticas, competindo com o HIV nesta ligação. O HIV contudo pode em alternativa usar o receptor CD4 (112) ou outros receptores (113).

A infecção pelo HIV compromete as funções dos macrófagos infectados, incluindo a produção de citocinas, a fagocitose (mediada por um receptor Fc γ (em inglês, *Fragment crystallizable gamma receptor*)) e a destruição dos microorganismos fagocitados. Contudo é observado um aumento na fagocitose da *Leishmania spp.* o que sugere que um mecanismo diferente de fagocitose está envolvido e que o HIV o promove (122).

A infecção por *Leishmania spp.* induz uma activação crónica do sistema imunitário e nos indivíduos infectados pelo HIV ocorre a activação do vírus, um aumento da carga viral e evolução clínica para SIDA (12,58).

A activação do vírus pelo parasita ocorre indirectamente por um aumento de TNF- α e IL-1 α o que induz o factor nuclear NF- κ B, um factor de transcrição, resultando no aumento da transcrição dos genes virais. O parasita aumenta também a expressão de receptores de quimiocinas como o CCR5, observando-se um aumento de linfócitos T CCR5+ CD3+. Sendo um dos co-receptores mais usados pelo HIV para entrada nas células, a sua maior expressão relaciona-se com um aumento da carga viral (12).

O lipofosfoglicano (LFG) é uma molécula expressa na superfície do parasita que se liberta após a fagocitose. Foi demonstrado que consegue aumentar a produção de partículas virais e é capaz de iniciar a activação do provírus (58).

Na co-infecção, o HIV contribui para uma maior multiplicação intracelular do parasita (12,58). A resposta imunitária protectora à Leishmaniose é mediada pelos linfócitos T_H1 . No entanto a infecção pelo HIV diminui a resposta T_H1 , favorecendo uma resposta T_H2 que aumenta a susceptibilidade ao parasita. Ocorre diminuição de IFN- γ , IL-12 (associado a uma resposta T_H1) e IL-18, com aumento de IL-4 e IL-10. Os indivíduos co-infectados apresentam ainda uma diminuição de IL-15 (estimuladora de uma resposta T_H1) (12,58).

A proteína transactivadora da transcrição (Tat) é secretada em grandes quantidades por células infectadas por HIV: estimula a secreção de IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, TGF- β , TNF- α e TNF- β ; anula o efeito do IFN- γ na destruição da *Leishmania* spp. e aumenta a produção da prostaglandina E_2 no macrófago o que aumenta a síntese de TGF- $\beta 1$.

A apresentação de antígenos e a estimulação dos linfócitos B depende dos linfócitos CD4+ e a sua diminuição culmina numa ineficaz resposta representada por uma predominante população oligoclonal que favorece a multiplicação parasitária (12). Muitos dos co-infectados (mais de 40%) não apresentam níveis detectáveis de anticorpos específicos para *Leishmania* spp. (31).

O número de linfócitos T_{Reg} aumenta na LV o que contribui para o estado de imunodeficiência nestes doentes (36). A infecção pelo HIV relaciona-se com um aumento dos níveis circulatórios da forma solúvel do antígeno leucocitário humano G (sHLA-G), uma molécula com propriedades imunossupressoras. Foi também observado um aumento nos co-infectados e nos doentes com LV seronegativos. Observou-se que a IL-10 induz a expressão de HLA-G (123).

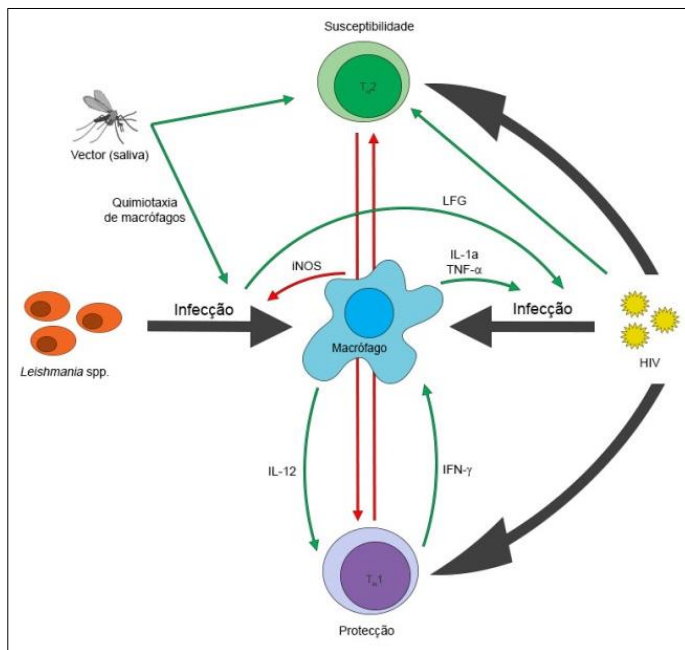


Figura 20 – Patogénese na co-infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e *Leishmania* spp. Quer a *Leishmania* spp., quer o vírus da imunodeficiência humana (HIV) podem infectar os macrófagos. O HIV pode ainda infectar os linfócitos, causando imunodeficiência e favorecendo assim a multiplicação da *Leishmania* spp. A esplenomegália na Leishmaniose visceral também causa imunodeficiência. A inflamação crónica e exagerada promove um aumento da resposta do tipo T_H2. A saliva do flebotómio também promove o estabelecimento da infecção pela *Leishmania* spp. O processo inflamatório e os lipofosfoglicanos (LFG) na superfície da *Leishmania* spp. promovem a infecção pelo HIV e activam o vírus latente. Seta vermelha: inibição; seta verde: estimulação; HIV: vírus da imunodeficiência humana; IL: interleucina; T_H: linfócito T auxiliar; TNF: factor de necrose tumoral; iNOS: sintetase induzível de óxido nítrico; IFN: interferão; LFG: lipofosfoglicanos. José Oliveira, 2017.

4.3 - Clinica

Na co-infecção a maioria dos casos apresenta a forma clínica de LV representando, por exemplo, no sul da Europa mais de 80% dos casos. O Brasil apresenta um perfil diferente com 43% dos co-infectados a apresentarem LMC, 37% LV e 20% LCL em 2003. As espécies dermatrópicas podem causar LV e as viscerotrópicas podem ser encontradas em lesões cutâneas. Em alguns casos foram encontradas espécies híbridas e espécies usualmente não patogénicas para o homem (ver secção 2.2).

A co-infecção apresenta menor probabilidade de cura, maior toxicidade medicamentosa, maior probabilidade de recorrências, e maiores números de mortalidade. São indivíduos que, pelas razões expostas, requerem maior vigilância durante o tratamento e seguimento após este finalizar. Os métodos parasitológicos, os métodos moleculares e o *KAtex* (ver secção 2.6.1.) podem ser utilizados nos co-infectados, quer para fins de diagnóstico, quer como importantes indicadores de prognóstico ao identificarem infecções subclínicas que precedem as recorrências (12).

Na co-infecção com HIV as formas atípicas de LC são mais comuns (secção 2.6.2). As manifestações cutâneas tendem a evoluir para formas dispersas como a LCD, com abundância

de formas amastigotas nos tecidos cutâneos. A LCD usualmente está associada a LV, devendo por isso os imunocomprometidos serem avaliados quanto à presença de LV quando apresentam LC. Os infiltrados de mononucleares e linfócitos são frequentemente escassos. O diagnóstico é mais difícil, as lesões adquirem um perfil mais crónico, há uma menor resposta ao tratamento e as recorrências são mais frequentes. Foi também reportado que a reconstituição imunitária, após início da TARc, poderá desmascarar ou agravar uma situação de LC pré-existente (12).

O diagnóstico de LV é igualmente mais difícil na co-infecção (10). Algumas manifestações clínicas típicas podem não estar presentes. A esplenomegália é menos evidente e cerca de 42-68% dos doentes apresentam infecções oportunistas concomitantes, dificultando o diagnóstico clínico. Casos atípicos de LV com colonização do intestino, pulmão, e outros órgãos representaram 8% dos casos em co-infecção em 2006, no sul da Europa. Segundo dados de 1995, em 8-12% dos casos de LV-HIV há envolvimento cutâneo. Cerca de metade dos co-infectados desenvolvem critérios de SIDA dentro de 2 meses após o diagnóstico de LV. A probabilidade de recorrência da LV depende do número de linfócitos CD4+ do indivíduo co-infectado. Uma recorrência de LV aumenta o risco de uma futura recorrência (12).

A introdução da TARc reduziu a incidência de LV (reduzindo a frequência de recorrências e aumentando o tempo médio entre estas), e aumentou a probabilidade de sobrevivência (11,12). A TARc iniciada após o tratamento da LV reduz o risco de mortalidade em cerca de 65% e o risco de recorrência em 75% (18) (mais de 60% segundo outro estudo, após 9 meses) (12).

Na Etiópia, formas graves de LDPK são mais comum nos co-infectados. Existe também uma associação entre LDPK e a reconstituição imunitária, após início da TARc, inclusive para casos de LV por *L. infantum*.

Os indivíduos co-infectados apresentam geralmente um aumento da carga viral, mesmo sobre tratamento, visto que ambas infecções contribuem para impedir o estabelecimento de uma resposta imunitária eficaz e consequentemente a capacidade de suprimir a carga viral (124).

No primeiro diagnóstico de LV por *L. infantum*, 79 a 100% dos doentes tinham contagens de linfócitos CD4+ inferiores a 200 células/ μ L, e 42-72% apresentavam o critério de SIDA antes ou durante o primeiro episódio de LV. A implementação da TARc não modificou significativamente este cenário.

Com a implementação da TARc, a presença de infecções concomitantes nos co-infectados diminuiu. Há também menor frequência de trombocitopenia, leucopenia e de alterações nos níveis de transaminases (12).

Mais de metade dos co-infectados têm formas amastigotas no sangue periférico algo que é incomum nos imunocompetentes (119), o que sugere uma maior infectividade nestes indivíduos (5).

A LDPK é mais comum nos co-infectados e mais frequentemente ocorre durante o tratamento da LV. As lesões são mais comuns nos membros e noutras zonas do corpo do que na cara (118).

4.4 - Tratamento

É recomendado iniciar-se imediatamente o tratamento da LV e só 7-10 dias depois se iniciar a TARc, depois de os indivíduos co-infectados terem sido educados para o tratamento do HIV (18).

As opções terapêuticas são reduzidas: os medicamentos podem estar inacessíveis devido ao seu preço, falta de aprovação, toxicidade, ineficácia ou ainda por não terem sido estudados na co-infecção. Há também a necessidade de estudar as combinações de fármacos nesta população para minimizar o desenvolvimento de resistências. Em geral há menor probabilidade de cura, com maior toxicidade medicamentosa e maior taxa de mortalidade que nos imunocompetentes. Uma baixa contagem de linfócitos CD4+ pode impedir a recuperação total e as múltiplas recorrências frequentemente resultam no parasita adquirir resistências aos fármacos previamente usados. *L. infantum* provavelmente tem uma diferente susceptibilidade aos fármacos que *L. donovani*, possui menor virulência e ocorre a contagens mais baixas de linfócitos CD4+. Uma resposta parasitária ao tratamento não indica ausência de futuras recorrências e uma resposta clínica não é indicativa de eliminação total dos parasitas.

Nos indivíduos co-infectados, é recomendado o tratamento sistémico na LC para reduzir a probabilidade de disseminação. No caso da LDPK tem sido usado a miltefosina (12). Na LV é recomendado a terapêutica com L-AmB ou, em alternativa, AmB ou SbV (Tabela 6)(9).

Nos casos em que se recorreu aos antimoniais pentavalentes as recorrências foram comuns e as taxas de sucesso diferem entre os estudos, em parte devido ao abandono da terapêutica ou a morte (12). Num estudo na Espanha, o tratamento com antimoniais pentavalentes apresentou efeitos adversos em 56% dos co-infectados, sendo necessário

descontinuar a terapêutica em 28%, e 12% faleceram durante o tratamento devido a pancreatite aguda (12). Os vômitos foram mais frequentes e com maior gravidade sendo necessário interromper a terapêutica em 35% dos co-infectados (125). Graves alterações electrocardíacas também foram reportadas (12), sendo um sinal precoce o prolongamento do intervalo QT corrigido (82), por outro lado, a mortalidade é maior nos co-infectados durante o tratamento, sendo cerca de 12% (82,125) a 33,3% (12). Os doentes com SIDA apresentam com frequência pancreatite subclínica o que pode justificar a maior susceptibilidade a doença pancreática (82). Outros factores de risco de pancreatite incluem o consumo de álcool, litíase biliar, hipertrigliceridémia, TARc (principalmente a didanosina), terapêutica com pentamidina e terapêutica com sulfametoxazol-trimetoprim (126,127). Foi também demonstrado que o estibogluconato de sódio estimula a replicação do HIV *in vitro*. O antimoniato de meglumina foi menos potente na indução da replicação viral (12,128).

A actividade dos antimoniais pentavalentes e da pentamidina dependem da imunidade celular, enquanto a miltefosina e a anfotericina não (81). A actividade da anfotericina B clássica é independente da resposta imunitária conforme observado em modelos animais (129), contudo a sua superioridade face aos antimoniais pentavalentes não foi observada em co-infectados. A eficácia numa primeira utilização varia entre 58-82%, com recorrências frequentes e, os efeitos adversos são de maior gravidade nos co-infectados, com nefrotoxicidade em 18-36% dos indivíduos co-infectados. As formulações lipídicas apresentam um melhor perfil de segurança. A mais usada é a formulação lipossomal de anfotericina B (Ambisome®) por ter o maior índice terapêutico. Na Europa, doses totais de 30-40mg/kg mostraram ser bem toleradas mas não previnem recorrências.

A miltefosina tem mostrado ser menos eficaz que os antimoniais mas mais segura. Os vômitos são mais frequentes, ocorrendo na Etiópia em 65% dos co-infectados. Com uma semivida de 7 dias, apresenta um risco aumentado de desenvolvimento de resistências, principalmente nos co-infectados nos quais as recorrências são frequentes. Assim, recomenda-se o prolongamento do tratamento até eliminação parasitária.

A paramomicina não foi estudada nos co-infectados (9,12).

4.5 – Prevenção

A prevenção consiste primordialmente em reduzir a exposição ao vector pelos métodos já descritos (secção 2.8). A profilaxia primária não é indicada (12) e não existem

vacinas para o ser humano. No caso dos UDI, os programas de troca de seringas podem contribuir para reduzir a transmissão nesta subpopulação (9).

A profilaxia secundária (Tabela 8), após o primeiro caso de LV, é recomendada nos indivíduos co-infectados com linfócitos CD4+ <200 células/ μ L (9). Os fármacos estudados, com eficácia foram: L-AmB (130), CL-AmB (131), pentamidina (132,133) e antimoniais pentavalentes (134). Deve-se considerar como primeira opção CL-AmB ou L-AmB. O alopurinol não é recomendado devido à baixa eficácia. A profilaxia secundária pode ser suspensa quando a contagem de linfócitos CD4+ aumentar para 200-350 células/ μ L ou, segundo outros autores, deve ser continuada indefinidamente (9,115).

Na profilaxia secundária com CL-AmB, por exemplo, 78% não teve recorrências em 12 meses (36).

Tabela 8 – Regimes de profilaxia secundária estudados. Dados de (9,130–134). José Oliveira, 2017.

Fármaco	Regime posológico
CL-AmB	3mg/kg a cada 21 dias [9;131].
L-AmB	4mg/kg a cada 2-4 semanas [9] ou 5mg/kg a cada 3 semanas [130].
SbV	20mg/kg IV ou IM a cada 4 semanas [9;134].
Pent	6mg/kg IV a cada 2-4 semanas [132] ou 4mg/kg a cada 4 semanas [133].

Capítulo 5 - Conclusão

A infecção pelo HIV influencia a evolução da infecção pela *Leishmania* spp. e reciprocamente este protozoário influencia a infecção pelo vírus. Vários mecanismos patológicos estão envolvidos nesta interacção e mais estudos são necessários para os explorar e compreender em pormenor. Nos últimos anos foram caracterizadas novas subpopulações de linfócitos T_H, como por exemplo os linfócitos T_H17: de facto, o papel que estes linfócitos desempenham no processo patológico ainda não está bem elucidado. Por outro lado, foi observado que a saliva dos flebotómíneos influencia o estabelecimento da infecção pela *Leishmania* spp. sendo que existem diferenças entre as diferentes espécies de flebotómíneos.

É conhecido que a infecção pelo HIV compromete o processo de fagocitose por parte dos macrófagos, contudo observa-se um aumento da fagocitose deste protozoário na co-infecção: este facto sugere que um outro receptor ou um outro mecanismo possa estar envolvido na entrada da *Leishmania* spp. na célula.

As recorrências de LV são frequentes e os indivíduos co-infectados ao estarem sujeitos a vários ciclos de monoterapia podem adquirir resistências aos fármacos. Estas estripes resistentes podem depois infectar o vector e disseminar-se na comunidade. Devem ser realizados mais estudos para se poder transitar da terapêutica actual para uma terapêutica com combinação dos fármacos. A paromomicina e a miltefosina necessitam de mais estudos nos co-infectados e na infecção por *L. infantum*.

Referências Bibliográficas

1. Freitas e Costa M. Dicionário de termos médicos. Porto Editora, Lda.; 2012.
2. Rey L. Bases da Parasitologia Médica. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
3. Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. Prescott's Microbiology. 8th ed. McGraw-Hill; 2011.
4. Sundar S, Chakravarty J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. *Expert Opin Pharmacother* [Internet]. 2015 Jan 22;16(2):237–52. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14656566.2015.973850>
5. van Griensven J, Carrillo E, López-Vélez R, Lynen L, Moreno J. Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2014 Apr;20(4):286–99. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14602743>
6. Moreno J, Alvar J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol* [Internet]. 2002 Sep;18(9):399–405. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492202023474>
7. Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. Bañuls A-L, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2016 Mar 3;10(3):e0004349. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0004349>
8. Bailey H, Bishop WJ. Leishman-Donovan bodies and donovianiasis; Sir William Boog Leishman, 1865-1926; Charles Donovan, 1863-1951. *Br J Vener Dis* [Internet]. 1959 Mar;35(1):8–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13651657>
9. Panel on Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents. Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the [Internet]. 2016 [cited 2016 Nov 20]. Available from: https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/Adult_OI.pdf
10. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Ending AIDS: Progress towards the 90–90–90 targets [Internet]. Geneva; 2017. Available from: http://www.unaids.org/en/resources/documents/2017/20170720_Global_AIDS_update_2017
11. World Health Organization. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases [Internet]. Geneva, Switzerland; 2015. Available from: www.who.int/neglected_diseases/resources/en/
12. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Canavate C, Dedet J-P, et al. The Relationship between Leishmaniasis and AIDS: the Second 10 Years. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2008 Apr 1;21(2):334–59. Available from: <http://cmr.asm.org/cgi/doi/10.1128/CMR.00061-07>
13. Hasker E, Singh SP, Malaviya P, Singh RP, Shankar R, Boelaert M, et al. Management

- of visceral leishmaniasis in rural primary health care services in Bihar, India. *Trop Med Int Heal* [Internet]. 2010 Jul;15(Suppl 2):55–62. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3156.2010.02562.x>
14. Meheus F, Boelaert M, Baltussen R, Sundar S. Costs of patient management of visceral leishmaniasis in Muzaffarpur, Bihar, India. *Trop Med Int Heal* [Internet]. 2006 Nov;11(11):1715–24. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3156.2006.01732.x>
 15. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. Kirk M, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 May 31;7(5):e35671. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0035671>
 16. World Health Organization. Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. *Wkly Epidemiol Rec* [Internet]. 2016;91(22):285–96. Available from: http://www.who.int/neglected_diseases/resources/who_wer9122/en/
 17. World Health Organization. Observatório Mundial de Saúde [Internet]. [cited 2017 Aug 6]. Available from: http://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/
 18. World Health Organization. Kala-azar elimination programme: report of a WHO consultation of partners [Internet]. Geneva, Switzerland; 2015. Available from: <http://www.who.int/leishmaniasis/resources/9789241509497/en/>
 19. World Health Organization. Leishmaniasis [Internet]. [cited 2017 Oct 13]. Available from: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>
 20. The Fund for Peace. Fragile States Index [Internet]. 2017. Available from: <http://fundforpeace.org/fsi/2017/05/14/fragile-states-index-2017-annual-report/>
 21. Direção-Geral da Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 2012-2015 [Internet]. Vol. I. 2016. Available from: <https://www.dgs.pt/portal-da-estatistica-da-saude/diretorio-de-informacao/diretorio-de-informacao/por-serie.aspx>
 22. Singh SP, Reddy DCS, Rai M, Sundar S. Serious underreporting of visceral leishmaniasis through passive case reporting in Bihar, India. *Trop Med Int Heal* [Internet]. 2006 Jun;11(6):899–905. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3156.2006.01647.x>
 23. Singh VP, Pandey K, Ranjan A, Das P, Topno RK, Verma RB, et al. Estimation of Under-Reporting of Visceral Leishmaniasis Cases in Bihar, India. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2010 Jan 1;82(1):9–11. Available from: <http://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.2010.09-0235>
 24. Chowdhury R, Mondal D, Chowdhury V, Faria S, Alvar J, Nabi SG, et al. How Far Are We from Visceral Leishmaniasis Elimination in Bangladesh? An Assessment of Epidemiological Surveillance Data. Ghedin E, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2014 Aug 21;8(8):e3020. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003020>
 25. Kwakye-Nuako G, Mosore M-T, Duplessis C, Bates MD, Puplampu N, Mensah-Attipoe I, et al. First isolation of a new species of *Leishmania* responsible for human cutaneous leishmaniasis in Ghana and classification in the *Leishmania enriettii* complex. *Int J Parasitol* [Internet]. Australian Society for Parasitology Inc.; 2015

- Sep;45(11):679–84. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020751915001484>
26. Pothirat T, Tantiworawit A, Chaiwarith R, Jariyapan N, Wannasan A, Siriyasatien P, et al. First Isolation of *Leishmania* from Northern Thailand: Case Report, Identification as *Leishmania martiniquensis* and Phylogenetic Position within the *Leishmania enriettii* Complex. Schönian G, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2014 Dec 4;8(12):e3339. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003339>
 27. Siriyasatien P, Chusri S, Kraivichian K, Jariyapan N, Hortiwakul T, Silpapojakul K, et al. Early detection of novel *Leishmania* species DNA in the saliva of two HIV-infected patients. BMC Infect Dis [Internet]. BMC Infectious Diseases; 2016 Dec 24;16(1):89. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/16/89>
 28. Kuhls K, Alam MZ, Cupolillo E, Ferreira GEM, Mauricio IL, Oddone R, et al. Comparative Microsatellite Typing of New World *Leishmania infantum* Reveals Low Heterogeneity among Populations and Its Recent Old World Origin. Kamhawi S, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2011 Jun 7;5(6):e1155. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0001155>
 29. Besteiro S, Williams RAM, Coombs GH, Mottram JC. Protein turnover and differentiation in *Leishmania*. Int J Parasitol [Internet]. 2007 Aug;37(10):1063–75. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020751907001038>
 30. Neves DP. Parasitologia Humana. 11^a ed. São Paulo: Atheneu; 2005.
 31. Alvar J, Cañavate C, Gutiérrez-Solar B, Jiménez M, Laguna F, López-Vélez R, et al. *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. Clin Microbiol Rev [Internet]. 1997 Apr;10(2):298–319. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9105756>
 32. Maroli M, Feliciangeli MD, Bichaud L, Charrel RN, Gradoni L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. Med Vet Entomol [Internet]. 2013 Jun;27(2):123–47. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x>
 33. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10275>
 34. Alten B, Maia C, Afonso MO, Campino L, Jiménez M, González E, et al. Seasonal Dynamics of Phlebotomine Sand Fly Species Proven Vectors of Mediterranean Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*. Bates PA, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2016 Feb 22;10(2):e0004458. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0004458>
 35. Reithinger R, Dujardin J-C, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. Lancet Infect Dis [Internet]. 2007 Sep;7(9):581–96. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309907702098>
 36. World Health Organization. Control of the leishmaniasis. World Health Organ Tech Rep Ser [Internet]. 2010;(949):22–6. Available from: http://www.who.int/neglected_diseases/resources/who_trs_949/en/
 37. Campino L, Maia C. [Epidemiology of leishmaniasis in Portugal]. Acta Med Port [Internet]. 2010;23(5):859–64. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21144327>

38. Slama D, Haouas N, Remadi L, Mezhoud H, Babba H, Chaker E. First detection of *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae). *Parasit Vectors* [Internet]. *Parasites & Vectors*; 2014;7(1):51. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-51>
39. Seblova V, Sadlova J, Vojtkova B, Votypka J, Carpenter S, Bates PA, et al. The Biting Midge *Culicoides sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) Is Capable of Developing Late Stage Infections of *Leishmania enriettii*. Acosta-Serrano A, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2015 Sep 14;9(9):e0004060. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0004060>
40. Dougall AM, Alexander B, Holt DC, Harris T, Sultan AH, Bates PA, et al. Evidence incriminating midges (Diptera: Ceratopogonidae) as potential vectors of *Leishmania* in Australia. *Int J Parasitol* [Internet]. 2011 Apr [cited 2016 Aug 9];41(5):571–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020751911000105>
41. Coutinho MTZ, Bueno LL, Sterzik A, Fujiwara RT, Botelho JR, De Maria M, et al. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol* [Internet]. 2005 Mar 10 [cited 2016 Aug 8];128(1–2):149–55. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401704005461>
42. Dantas-Torres F, Lorusso V, Testini G, de Paiva-Cavalcanti M, Figueredo LA, Stanneck D, et al. Detection of *Leishmania infantum* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil and Italy. *Parasitol Res* [Internet]. 2010 Mar 3;106(4):857–60. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00436-010-1722-4>
43. Solano-Gallego L, Rossi L, Scroccaro A, Montarsi F, Caldin M, Furlanello T, et al. Detection of *Leishmania infantum* DNA mainly in *Rhipicephalus sanguineus* male ticks removed from dogs living in endemic areas of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors* [Internet]. ???; 2012 May 21;5(1):98. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-5-98>
44. Paz GF, Ribeiro MFB, de Magalhães DF, Sathler KPB, Morais MHF, Fiúza VOP, et al. Association between the prevalence of infestation by *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis felis* and the presence of anti-*Leishmania* antibodies: A case–control study in dogs from a Brazilian endemic area. *Prev Vet Med* [Internet]. 2010 Nov 1 [cited 2016 Aug 8];97(2):131–3. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587710002321>
45. Coutinho MTZ, Linardi PM. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? *Vet Parasitol* [Internet]. 2007 Jul 20 [cited 2016 Aug 8];147(3–4):320–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401707002294>
46. Monge-Maillo B, Norman FF, Cruz I, Alvar J, López-Vélez R. Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in the Mediterranean Region. Valenzuela JG, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2014 Aug 21;8(8):e3021. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003021>
47. Maia C, Gomes J, Cristóvão J, Nunes M, Martins A, Rebêlo E, et al. Feline *Leishmania*

- infection in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal. *Vet Parasitol* [Internet]. 2010 Dec 15 [cited 2016 Aug 8];174(3–4):336–40. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401710004851>
48. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol* [Internet]. 2008 Jul;24(7):324–30. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492208001323>
49. Koutinas AF, Koutinas CK. Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum*/chagasi. *Vet Pathol* [Internet]. 2014 Mar 7;51(2):527–38. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985814521248>
50. Naucke TJ, Amelung S, Lorentz S. First report of transmission of canine leishmaniosis through bite wounds from a naturally infected dog in Germany. *Parasit Vectors* [Internet]. *Parasites & Vectors*; 2016 Dec 10;9(1):256. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1551-0>
51. Duprey ZH, Steurer FJ, Rooney JA, Kirchhoff L V., Jackson JE, Rowton ED, et al. Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000–2003. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2006 Mar;12(3):440–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16704782>
52. Rosypal AC, Troy GC, Zajac AM, Frank G, Lindsay DS. Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. *J Parasitol* [Internet]. 2005 Aug;91(4):970–2. Available from: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1645/GE-483R.1>
53. da Silva SM, Ribeiro VM, Ribeiro RR, Tafuri WL, Melo MN, Michalick MSM. First report of vertical transmission of *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* in a naturally infected bitch from Brazil. *Vet Parasitol* [Internet]. 2009 Dec 3;166(1–2):159–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030440170900497X>
54. Turchetti AP, Souza TD, Paixão TA, Santos RL. Sexual and vertical transmission of visceral leishmaniasis. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2014 Apr 15;8(4):403–7. Available from: <http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/4108>
55. de Freitas E, Melo MN, da Costa-Val AP, Michalick MSM. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: Potential for infection and importance of clinical factors. *Vet Parasitol* [Internet]. 2006 Apr 15;137(1–2):159–67. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401705006035>
56. Dey A, Singh S. Transfusion transmitted leishmaniasis: a case report and review of literature. *Indian J Med Microbiol* [Internet]. 2006 Jul;24(3):165–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16912434>
57. Silva FL, Oliveira RG, Silva TMA, Xavier MN, Nascimento EF, Santos RL. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol* [Internet]. 2009 Mar;160(1–2):55–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401708006031>
58. Okwor I, Uzonna JE. The immunology of *Leishmania*/HIV co-infection. *Immunol Res* [Internet]. 2013 May 16;56(1):163–71. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12026-013-8389-8>

59. Teixeira DE, Benchimol M, Rodrigues JCF, Crepaldi PH, Pimenta PFP, de Souza W. The Cell Biology of Leishmania: How to Teach Using Animations. Knoll LJ, editor. PLoS Pathog [Internet]. 2013 Oct 10;9(10):e1003594. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1003594>
60. Dostálová A, Volf P. Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions overview. Parasit Vectors [Internet]. 2012;5(1):276. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-5-276>
61. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby Immunology. 6th ed. New York: W. H. Freeman and Company; 2007.
62. Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4+ T cells in immunity to viruses. Nat Rev Immunol [Internet]. Nature Publishing Group; 2012 Jan 20;12(2):136–48. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nri3152>
63. Lestinova T, Rohousova I, Sima M, de Oliveira CI, Volf P. Insights into the sand fly saliva: Blood-feeding and immune interactions between sand flies, hosts, and Leishmania. Milon G, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2017 Jul 13;11(7):e0005600. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0005600>
64. Sousa LMA, Carneiro MBH, Resende ME, Martins LS, dos Santos LM, Vaz LG, et al. Neutrophils have a protective role during early stages of Leishmania amazonensis infection in BALB/c mice. Parasite Immunol [Internet]. 2014 Jan;36(1):13–31. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pim.12078>
65. Clementi A, Battaglia G, Floris M, Castellino P, Ronco C, Cruz DN. Renal involvement in leishmaniasis: a review of the literature. Clin Kidney J [Internet]. 2011 Jun 1;4(3):147–52. Available from: <https://academic.oup.com/ckj/article-lookup/doi/10.1093/ndtplus/sfr008>
66. Varma N, Naseem S. Hematologic Changes in Visceral Leishmaniasis/Kala Azar. Indian J Hematol Blood Transfus [Internet]. 2010 Sep 30;26(3):78–82. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12288-010-0027-1>
67. World Health Organization. Post-kala-azar dermal leishmaniasis: a manual for case management and control [Internet]. Kolkata, Índia; 2012. Available from: http://www.who.int/neglected_diseases/resources/9789241505215/en/
68. Singh OP, Sundar S. Developments in Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in the Elimination Era. J Parasitol Res [Internet]. Hindawi Publishing Corporation; 2015;2015:1–10. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jpr/2015/239469/>
69. Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Oliva G, Baneth G. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. Trends Parasitol [Internet]. 2008 Aug;24(8):371–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492208001578>
70. Sakkas H, Gartzonika C, Levidiotou S. Laboratory diagnosis of human visceral leishmaniasis. J Vector Borne Dis [Internet]. 2016 Mar;53(1):8–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27004573>
71. Horst R ter, Tefera T, Assefa G, Ebrahim AZ, Davidson RN, Ritmeijer K. Field evaluation of rK39 test and direct agglutination test for diagnosis of visceral leishmaniasis in a population with high prevalence of human immunodeficiency virus in Ethiopia. Am J Trop Med Hyg. 2009 Jun;80(6):929–34.

72. Boelaert M, El Safi S, Jacquet D, de Muynck A, van der Stuyft P, Le Ray D. Operational validation of the direct agglutination test for diagnosis of visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 1999 Jan;60(1):129–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9988336>
73. Cota GF, de Sousa MR, de Freitas Nogueira BM, Gomes LI, Oliveira E, Assis TSM, et al. Comparison of parasitological, serological, and molecular tests for visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a cross-sectional delayed-type study. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2013 Sep 4;89(3):570–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23836568>
74. Cota GF, de Sousa MR, Demarqui FN, Rabello A. The Diagnostic Accuracy of Serologic and Molecular Methods for Detecting Visceral Leishmaniasis in HIV Infected Patients: Meta-Analysis. Boelaert M, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2012 May 29;6(5):e1665. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0001665>
75. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=15069>
76. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=15066>
77. Hashiguchi Y, Gomez EL, Kato H, Martini LR, Velez LN, Uezato H. Diffuse and disseminated cutaneous leishmaniasis: clinical cases experienced in Ecuador and a brief review. *Trop Med Health* [Internet]. Tropical Medicine and Health; 2016 Dec 14;44(1):2. Available from: <http://tropmedhealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41182-016-0002-0>
78. Shirian S, Oryan A, Hatam GR, Daneshbod Y. Three *Leishmania* / *L.* species – *L. infantum* , *L. major* , *L. tropica* – as causative agents of mucosal leishmaniasis in Iran. *Pathog Glob Health* [Internet]. 2013 Jul 27;107(5):267–72. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/2047773213Y.0000000098>
79. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=15068>
80. Musa AM, Khalil EAG, Younis BM, Elfaki MEE, Elamin MY, Adam AOA, et al. Treatment-Based Strategy for the Management of Post-Kala-Azar Dermal Leishmaniasis Patients in the Sudan. *J Trop Med* [Internet]. 2013;2013:1–5. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jtm/2013/708391/>
81. Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug Resistance in Leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2006 Jan 1;19(1):111–26. Available from: <http://cmr.asm.org/cgi/doi/10.1128/CMR.19.1.111-126.2006>
82. Sundar S, Chakravarty J. Antimony Toxicity. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2010 Dec 20;7(12):4267–77. Available from: <http://www.mdpi.com/1660-4601/7/12/4267/>
83. Sundar S, Singh A. Recent developments and future prospects in the treatment of visceral leishmaniasis. *Ther Adv Infect Dis* [Internet]. 2016 Jun;3(3–4):98–109.

Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2049936116646063>

84. Felton T, Troke PF, Hope WW. Tissue Penetration of Antifungal Agents. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2014 Jan 1;27(1):68–88. Available from: <http://cmr.asm.org/cgi/doi/10.1128/CMR.00046-13>
85. Gutiérrez V, Seabra AB, Reguera RM, Khandare J, Calderón M. New approaches from nanomedicine for treating leishmaniasis. *Chem Soc Rev* [Internet]. 2016;45(1):152–68. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5CS00674K>
86. Rahman M, Ahmed B-N, Faiz MA, Chowdhury MZU, Islam QT, Sayeedur R, et al. Phase IV trial of miltefosine in adults and children for treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar) in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2011 Jul 1;85(1):66–9. Available from: <http://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.2011.10-0661>
87. Rijal S, Ostyn B, Uranw S, Rai K, Bhattarai NR, Dorlo TPC, et al. Increasing Failure of Miltefosine in the Treatment of Kala-azar in Nepal and the Potential Role of Parasite Drug Resistance, Reinfection, or Noncompliance. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2013 Jun 1;56(11):1530–8. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cit102>
88. Rai K, Cuypers B, Bhattarai NR, Uranw S, Berg M, Ostyn B, et al. Relapse after Treatment with Miltefosine for Visceral Leishmaniasis Is Associated with Increased Infectivity of the Infecting *Leishmania donovani* Strain. *MBio* [Internet]. 2013 Oct 8;4(5):e00611-13-e00611-13. Available from: <http://mbio.asm.org/cgi/doi/10.1128/mBio.00611-13>
89. Hendrickx S, Mondelaers A, Eberhardt E, Delputte P, Cos P, Maes L. In Vivo Selection of Paromomycin and Miltefosine Resistance in *Leishmania donovani* and *L. infantum* in a Syrian Hamster Model. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2015 Aug;59(8):4714–8. Available from: <http://aac.asm.org/lookup/doi/10.1128/AAC.00707-15>
90. Ben Salah A, Ben Messaoud N, Guedri E, Zaatour A, Ben Alaya N, Bettaieb J, et al. Topical Paromomycin with or without Gentamicin for Cutaneous Leishmaniasis. *N Engl J Med* [Internet]. 2013 Feb 7;368(6):524–32. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1202657>
91. Hailu A, Musa A, Wasunna M, Balasegaram M, Yifru S, Mengistu G, et al. Geographical Variation in the Response of Visceral Leishmaniasis to Paromomycin in East Africa: A Multicentre, Open-Label, Randomized Trial. Lockwood DNJ, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2010 Oct 26;4(10):e709. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0000709>
92. Musa A, Khalil E, Hailu A, Olobo J, Balasegaram M, Omollo R, et al. Sodium Stibogluconate (SSG) & Paromomycin Combination Compared to SSG for Visceral Leishmaniasis in East Africa: A Randomised Controlled Trial. Lockwood DNJ, editor. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2012 Jun 19;6(6):e1674. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0001674>
93. Sundar S, Sinha PK, Rai M, Verma DK, Nawin K, Alam S, et al. Comparison of short-course multidrug treatment with standard therapy for visceral leishmaniasis in India: an open-label, non-inferiority, randomised controlled trial. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd;

- 2011 Feb;377(9764):477–86. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673610620508>
94. Diro E, Lynen L, Mohammed R, Boelaert M, Hailu A, van Griensven J. High Parasitological Failure Rate of Visceral Leishmaniasis to Sodium Stibogluconate among HIV Co-infected Adults in Ethiopia. Louzir H, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2014 May 22;8(5):e2875. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002875>
 95. Cota GF, de Sousa MR, Fereguetti TO, Rabello A. Efficacy of Anti-Leishmania Therapy in Visceral Leishmaniasis among HIV Infected Patients: A Systematic Review with Indirect Comparison. Reithinger R, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2013 May 2;7(5):e2195. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002195>
 96. Faghihi G, Tavakoli-kia R. Treatment of cutaneous leishmaniasis with either topical paromomycin or intralesional meglumine antimoniate. Clin Exp Dermatol [Internet]. 2003 Jan;28(1):13–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2230.2003.01169.x>
 97. Neves LO, Talhari AC, Gadelha EPN, Silva Júnior RM da, Guerra JA de O, Ferreira LC de L, et al. A randomized clinical trial comparing meglumine antimoniate, pentamidine and amphotericin B for the treatment of cutaneous leishmaniasis by *Leishmania guyanensis*. An Bras Dermatol [Internet]. 2011 Dec;86(6):1092–101. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22281895>
 98. Mahajan R, Das P, Isaakidis P, Sunyoto T, Sagili KD, Lima MA, et al. Combination Treatment for Visceral Leishmaniasis Patients Coinfected with Human Immunodeficiency Virus in India. Clin Infect Dis [Internet]. 2015 Oct 15;61(8):1255–62. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/civ530>
 99. Sundar S, Rai M, Chakravarty J, Agarwal D, Agrawal N, Vaillant M, et al. New Treatment Approach in Indian Visceral Leishmaniasis: Single-Dose Liposomal Amphotericin B Followed by Short-Course Oral Miltefosine. Clin Infect Dis [Internet]. 2008 Oct 15;47(8):1000–6. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/591972>
 100. Sosa N, Capitán Z, Nieto J, Nieto M, Calzada J, Paz H, et al. Randomized, double-blinded, phase 2 trial of WR 279,396 (paromomycin and gentamicin) for cutaneous leishmaniasis in Panama. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2013 Sep 4;89(3):557–63. Available from: <http://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.12-0736>
 101. Asilian A, Sadeghinia A, Faghihi G, Momeni A, Amini Harandi A. The efficacy of treatment with intralesional meglumine antimoniate alone, compared with that of cryotherapy combined with the meglumine antimoniate or intralesional sodium stibogluconate, in the treatment of cutaneous leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol [Internet]. 2003 Jul 18;97(5):493–8. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/000349803225001373>
 102. Aebischer T. *Leishmania* spp. Proteome Data Sets: A Comprehensive Resource for Vaccine Development to Target Visceral Leishmaniasis. Front Immunol [Internet]. 2014 Jun 10;5(JUN):1–8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00260/abstract>

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogênese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Referências Bibliográficas

103. Evans KJ, Kedzierski L. Development of Vaccines against Visceral Leishmaniasis. *J Trop Med* [Internet]. 2012;2012:1–14. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jtm/2012/892817/>
104. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global AIDS Update [Internet]. Geneva; 2016. Available from: <http://www.who.int/hiv/pub/arv/global-aids-update-2016-pub/en/>
105. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). AIDSinfo [Internet]. 2017 [cited 2017 Nov 2]. Available from: <http://aidsinfo.unaids.org/>
106. Maartens G, Celum C, Lewin SR. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014 Jul;384(9939):258–71. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614601641>
107. International Lesbian, Gay, Bisexual, Trans and Intersex Association (ILGA): Carroll A. State Sponsored Homophobia 2016: A world survey of sexual orientation laws: criminalisation, protection and recognition [Internet]. Geneva; 2016. Available from: <http://ilga.org/state-sponsored-homophobia-report>
108. Smith AD, Tapsoba P, Peshu N, Sanders EJ, Jaffe HW. Men who have sex with men and HIV/AIDS in sub-Saharan Africa. *Lancet* [Internet]. 2009 Aug;374(9687):416–22. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673609611181>
109. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=18163>
110. Collier L, Kellam P, Oxford J. Human Virology. 4^a ed. New York: Oxford University Press Inc.; 2011.
111. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=18162>
112. Zhao C, Cantin R, Breton M, Papadopoulos B, Tremblay MJ. DC-SIGN–Mediated Transfer of HIV-1 Is Compromised by the Ability of *Leishmania infantum* to Exploit DC-SIGN as a Ligand. *J Infect Dis* [Internet]. 2005 May 15;191(10):1665–9. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/429673>
113. Wu L, KewalRamani VN. Dendritic-cell interactions with HIV: infection and viral dissemination. Nixon AE, editor. *Nat Rev Immunol* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2006 Nov;6(11):859–68. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nri1960>
114. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Public Health Image Library (PHIL) [Internet]. [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=6053>
115. ter Horst R, Collin SM, Ritmeijer K, Bogale A, Davidson RN. Concordant HIV Infection and Visceral Leishmaniasis in Ethiopia: The Influence of Antiretroviral Treatment and Other Factors on Outcome. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2008 Jun;46(11):1702–9. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/587899>
116. Lindoso JA, Cota GF, da Cruz AM, Goto H, Maia-Elkhoury ANS, Romero GAS, et al.

- Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in Latin America. Valenzuela JG, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2014 Sep 18;8(9):e3136. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003136>
117. Burza S, Mahajan R, Sanz MG, Sunyoto T, Kumar R, Mitra G, et al. HIV and Visceral Leishmaniasis Coinfection in Bihar, India: An Underrecognized and Underdiagnosed Threat Against Elimination. Clin Infect Dis [Internet]. 2014 Aug 15;59(4):552–5. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/ciu333>
 118. Zijlstra EE. PKDL and Other Dermal Lesions in HIV Co-infected Patients with Leishmaniasis: Review of Clinical Presentation in Relation to Immune Responses. Valenzuela JG, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2014 Nov 20;8(11):e3258. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003258>
 119. Cruz I, Morales MA, Noguer I, Rodríguez A, Alvar J. Leishmania in discarded syringes from intravenous drug users. Lancet (London, England) [Internet]. 2002 Mar 30;359(9312):1124–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11943264>
 120. Pineda JA, Martín-Sánchez J, Macías J, Morillas F. Leishmania spp infection in injecting drug users. Lancet [Internet]. 2002 Sep;360(9337):950–1. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673602110567>
 121. Desjeux P, Alvar J. Leishmania /HIV co-infections: epidemiology in Europe. Ann Trop Med Parasitol [Internet]. 2003 Oct 2;97(sup1):3–15. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/000349803225002499>
 122. Zhao C, Thibault S, Messier N, Ouellette M, Papadopoulos B, Tremblay MJ. In primary human monocyte-derived macrophages exposed to Human immunodeficiency virus type 1, does the increased intracellular growth of Leishmania infantum rely on its enhanced uptake? J Gen Virol [Internet]. 2006 May 1;87(Pt 5):1295–302. Available from: <http://jgv.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.81647-0>
 123. Donaghy L, Gros F, Amiot L, Mary C, Maillard A, Guiguen C, et al. Elevated levels of soluble non-classical major histocompatibility class I molecule human leucocyte antigen (HLA)-G in the blood of HIV-infected patients with or without visceral leishmaniasis. Clin Exp Immunol [Internet]. 2007 Feb;147(2):236–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17223963>
 124. Alexandrino-de-Oliveira P, Santos-Oliveira JR, Dorval MEC, Da-Costa F das CB, Pereira GROL, Cunha RV da, et al. HIV/AIDS-associated visceral leishmaniasis in patients from an endemic area in Central-west Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2010 Aug;105(5):692–7. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762010000500016&lng=en&tlng=en
 125. Ritmeijer K, Dejenie A, Assefa Y, Hundie TB, Mesure J, Boots G, et al. A Comparison of Miltefosine and Sodium Stibogluconate for Treatment of Visceral Leishmaniasis in an Ethiopian Population with High Prevalence of HIV Infection. Clin Infect Dis [Internet]. 2006 Aug;43(3):357–64. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/505217>
 126. Dragovic G. Acute pancreatitis in HIV/AIDS patients: an issue of concern. Asian Pac J Trop Biomed [Internet]. 2013 Jun;3(6):422–5. Available from:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S222116911360091X>

127. Oliveira NM, Ferreira FAY, Yonamine RY, Chehter EZ. Antiretroviral drugs and acute pancreatitis in HIV/AIDS patients: is there any association? A literature review. Einstein (São Paulo) [Internet]. 2014 Mar;12(1):112–9. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082014000100022&lng=en&tlng=en
128. Barat C, Zhao C, Ouellette M, Tremblay MJ. HIV-1 Replication Is Stimulated by Sodium Stibogluconate, the Therapeutic Mainstay in the Treatment of Leishmaniasis. J Infect Dis [Internet]. 2007 Jan 15;195(2):236–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17191169>
129. Murray HW, Hariprashad J, Fichtl RE. Treatment of experimental visceral leishmaniasis in a T-cell-deficient host: response to amphotericin B and pentamidine. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 1993 Jul;37(7):1504–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8363382>
130. Molina I, Falco V, Crespo M, Riera C, Ribera E, Curran A, et al. Efficacy of liposomal amphotericin B for secondary prophylaxis of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2007 Jul 10;60(4):837–42. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkm294>
131. López-Vélez R, Videla S, Márquez M, Boix V, Jiménez-Mejías ME, Górgolas M, et al. Amphotericin B lipid complex versus no treatment in the secondary prophylaxis of visceral leishmaniasis in HIV-infected patients. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2004 Mar 12;53(3):540–3. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkh084>
132. Patel TA, Lockwood DN. Pentamidine as secondary prophylaxis for visceral leishmaniasis in the immunocompromised host: report of four cases. Trop Med Int Heal [Internet]. 2009 Sep;14(9):1064–70. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3156.2009.02329.x>
133. Diro E, Ritmeijer K, Boelaert M, Alves F, Mohammed R, Abongomera C, et al. Use of Pentamidine As Secondary Prophylaxis to Prevent Visceral Leishmaniasis Relapse in HIV Infected Patients, the First Twelve Months of a Prospective Cohort Study. Louzir H, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2015 Oct 2;9(10):e0004087. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0004087>
134. Ribera E, Ocaña I, de Otero J, Cortes E, Gasser I, Pahissa A. Prophylaxis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus-infected patients. Am J Med [Internet]. 1996 May;100(5):496–501. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8644760>

A Leishmaniose em indivíduos infectados com HIV: Influência da Patogénese na Clínica,
Imunologia, Tratamento e Prevenção
Referências Bibliográficas